UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II
Unité d'Enseignement et de Recherche
de Sciences Pharmaceutiques

Année 1972 - Thèse N° 639

Nouvelles études sur les Joubarbes

Le Sempervivum tectorum L

Thèse pour le Doctorat de l'Université
(Mention Pharmacie)
présentée et soutenue publiquement
le Mercredi 17 Mai 1972

par Bernard PLANCHE
né le 8 Septembre 1945 à SAINT-CHAMANT (Corrèze)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. J. MASQUELIER, Professeur . . . . . Président

M. R. BABIN, Professeur . . . . . }
M. R. BAUTE, Professeur . . . . . } Juges
M. F. COUSTOU, Professeur . . . . . }

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret - BORDEAUX
— Tél. 91.12.59 —

UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Professeurs titulaires

MM. BABIN René ..... *Pharmacie chimique*
BAILENGER Jean ..... *Zoologie et Biologie animale*
CANELLAS Jean ..... *Pharmacodynamie et Hydrologie*
CASTAGNOU Raymond ..... *Toxicologie et Hygiène appliquée*
COLLETER Jean-Claude.. *Chimie analytique et Bromatologie*
CROCKETT René ..... *Biochimie pharmaceutique*
GOLSE René ..... *Chimie générale et Chimie minérale*
LAUBIE Henri ..... *Botanique et Cryptogamie*
MASQUELIER Jack ..... *Matière médicale*
MESNARD Pierre..... *Chimie organique et Chimie analytique*
QUILICHINI Raymond ... *Pharmacie galénique*

Professeurs sans Chaire

MM. DEVAUX Guy ..... *Pharmacie chimique*
Mlle LARCEBAU Suzanne ..... *Toxicologie*
MM. ROQUEBERT Jacques ..... *Pharmacodynamie*
VRIGNAUD Claude ..... *Physique pharmaceutique*

Maîtres de Conférences agrégés

MM. AUMONIER Pierre ..... *Pharmacie galénique*
BAUTE Robert ..... *Cryptogamie*
COUSTOU Franck ..... *Législation et Déontologie pharmaceutique*
DARGELOS Vincent ..... *Microbiologie*
GADRET Michel ..... *Chimie analytique*
JOUZIER Etienne ..... *Biochimie pharmaceutique*

-:-

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547324_0006

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II
Unité d'Enseignement et de Recherche
de Sciences Pharmaceutiques

Année 1972 - Thèse N° 639

Nouvelles études sur les Joubarbes

Le Sempervivum tectorum L

Thèse pour le Doctorat de l'Université
(Mention Pharmacie)
présentée et soutenue publiquement
le Mercredi 17 Mai 1972

par Bernard PLANCHE
né le 8 Septembre 1945 à SAINT-CHAMANT (Corrèze)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. J. MASQUELIER, Professeur . . . . . Président

M. R. BABIN, Professeur . . . . . } Juges
M. R. BAUTE, Professeur . . . . . }
M. F. COUSTOU, Professeur . . . . . }

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret - BORDEAUX
— Tél. 91.12.59 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MES PARENTS

Ils m'ont toujours donné l'exemple du travail et de la persévérance.
Puissé-je ne pas les décevoir et que ce modeste ouvrage soit le témoignage de ma filiale et affectueuse reconaissance.

A TOUTE MA FAMILLE

A MES AMIS

A Mesdames BLASCO, CARRERE et DUTHOIT
du Laboratoire de Pharmacie chimique

Au Personnel
du Laboratoire de Matière Médicale
et de Botanique
qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

Au Personnel
du Service de Biochimie
de la Fondation Bergonié

Au Personnel
des Laboratoires Français de Thérapeutique

A Monsieur le Professeur G. VITTE
Professeur Honoraire de Pharmacie chimique

Hommage respectueux.

A Monsieur le Professeur F. COUSTOU

Maître de Conférences agrégé de Législation pharmaceutique
Docteur en Pharmacie (Etat)
Licencié en Droit
Membre correspondant de l'Académie de Pharmacie
Officier des Palmes académiques

Vous nous avez fait bénéficier de la richesse de votre enseignement et d'une bienveillance qui ne s'est jamais démentie.

Votre accueil, vos conseils et votre soutien ne sauraient être oubliés.

Nous vous prions d'accepter, avec nos remerciements, nos sentiments de très sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur R. BAUTE

Professeur de Cryptogamie
Docteur ès Sciences

Vous avez toujours su nous réserver le meilleur accueil.

En nous faisant l'honneur de juger cette thèse, vous avez bien voulu continuer à nous témoigner le même bienveillant intérêt que durant nos études.

Veuillez trouver ici l'assurance de notre sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur R. BABIN

Professeur de Pharmacie chimique
Docteur en Pharmacie
Docteur ès Sciences
Chef du Service de Biochimie du Centre régional de lutte contre le Cancer (Fondation Bergonié)
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier des Palmes académiques
Médaille d'Honneur du Service de Santé des Armées

Nous sommes infiniment sensible à la sympathie que vous ne cessez de nous porter. Depuis le début de nos études, vous nous avez fait bénéficier de la richesse et de l'étendue de vos connaissances ; vous avez aussi bien voulu nous accueillir dans votre laboratoire.

Permettez-nous de vous exprimer nos vifs remerciements et notre profond attachement.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur J. MASQUELIER

Docteur ès Sciences
Directeur de l'U.E.R. de Pharmacie
Doyen de la Faculté de Pharmacie de Bordeaux
Professeur de Matière Médicale
Officier des Palmes académiques
Chevalier du Mérite agricole

Malgré vos nombreuses obligations de Doyen, et celles résultant de vos travaux personnels de notoriété unanimement reconnue, vous nous avez accordé avec bienveillance une partie de votre temps précieux, et votre personnel a toujours su nous recevoir avec la gentillesse et la compétence que vous représentez.

Nous vous exprimons ici notre profonde gratitude et vous assurons de notre respectueuse reconnaissance.

NOUVELLES ETUDES SUR LES JOUBARBES

Le *Sempervivum tectorum L*

-:-

I N T R O D U C T I O N

Des idées, il peut en venir à celui qui cherche quand il prend connaissance des idées des autres et d'abord des anciens.

Souvent c'est parmi les substances dont un empirisme de plusieurs siècles a laissé soupçonner des propriétés curatives qu'un chimiste choisit le point de départ de toutes ses recherches ; c'est ainsi que nous avons décidé de nous intéresser à cette plante que l'on appelle parfois dans certaines régions "l'artichaut", et qui n'est autre que le *Sempervivum tectorum* faisant l'objet de notre travail.

G E N E R A L I T E S

Le genre *Sempervivum* appartient à la famille des Crassulacées voisine de celle des Saxifragacées. Ces plantes grasses sont caractérisées par leurs rosettes de feuilles en forme de petit artichaut qui ne permettent guère de les confondre avec d'autres plantes.

Sempervivum signifie "toujours vivant", toujours vert et déjà dans l'antiquité, tel était le nom de ces plantes qui peuvent vivre longtemps sans eau, ni terre.

Quant au nom français "joubarbe", du latin *Jovis barba* (barbe de Jupiter) qui donna jousbarbe puis joubarbe, il fait allusion à l'ancienne croyance d'après laquelle les joubarbes détournaient la foudre, lancée par Jupiter, des toits sur lesquels elles demeuraient vertes amlgré la sècheresse.

H I S T O R I Q U E

La Grande Joubarbe était connue des Anciens sous le nom d'aizöon ; THEOPHRASTE (IVè siècle av. J.C.), la mentionne comme croissant sur les murs et sur les toits. DIOSCORIDE (1er siècle) lui assigne des propriétés rafraîchissantes et astringentes qu'il préconise contre l'érysipèle, les ulcères rongeurs, les inflammations des yeux, les brûlures, la podagre, les maux de tête, et en usage interne, sous forme de suc frais contre les morsures de la tarentule, la dysenterie, les vers intestinaux.

Il semble que tout d'abord, on plantait la Joubarbe sur les huttes primitives afin d'en protéger le toit contre les dégâts des grandes pluies et qu'ensuite, en constatant que la foudre ne les frappait pas, on en est venu à attribuer à cette plante cette vertu protectrice ; cette croyance était répandue aussi bien chez les peuples de l'Antiquité classique que chez les populations germaniques.

CHARLEMAGNE, dans le Capitulare de Villis (812) ordonne aux nombreux fermiers des biens impériaux de recourir à ce genre de paratonnerre. Des très nombreux noms donnés à cette plante au Moyen-Age, beaucoup font allusion à cet usage. Elle est également utilisée à cette époque contre la dureté d'oreilles et la surdité ; contre les maladies des yeux et comme aphrodisiaque.

Les Botanistes du XVIè siècle n'ajoutèrent rien d'essentiel à ces indications, dont la plupart ont été confirmées :

- Pierre de FOREST (1634) a vérifié l'action bienfaisante de la joubarbe sur les ulcères ;
- LECLERC (1696) dans l'ophtalmie ;
- CAZIN (1854) dans l'eczéma aigu ;
- BOYER à la même époque, dans les diverses irritations et ulcérations de la peau ;
- ROQUE (1837) dans la diarrhée et la dysenterie ;
- REICHEL vers 1850 a même prétendu en faire un spécifique des affections utérines à caractère spasmodique ;
- l'Abbé SEB-KNEIPP à la fin du XIXème siècle déclare en avoir obtenu les meilleurs résultats dans les nausées et les ulcères stomacaux ; il faisait également une pommade de feuilles cuites avec du saindoux, contre les contusions par coups ou par chute.

Propriétés générales.

Très usitée depuis des siècles dans la médecine populaire, la joubarbe se montre effectivement astringente, antispasmodique, détersive ; on l'indique également comme diurétique, fébrifuge, hémostatique, stimulante des échanges. En conséquence on l'emploie et surtout on a employé autrefois son suc contre les ulcères d'estomac, les fièvres inflammatoires, bilieuses et intermittentes, la dysenterie, les maladies de la vessie, les maladies convulsives, la chorée, l'épilepsie, les affections nerveuses et cardiaques, les hémorroïdes, les métrorrhagies, le scorbut, les vers intestinaux.

Il est bon de signaler que ROQUE vit le suc de joubarbe procurer en peu de jours la guérison parfaite en ce qui concerne la dysenterie et les diarrhées persistantes.

D'autre part, H. SCHUTZ (1929) reprenant les anciennes indications de REICHEL, affirme que le suc frais

calme les névralgies utérines, liées aux divers troubles de la menstruation (aménorrhée, dysménorrhée) ; on l'a même ordonnée contre les carcinomes de l'utérus et de la langue.

De même, au cours de notre travail bibliographique nous avons retenu l'article de MACDONALD (37) de 1913, nous faisant part de l'utilisation de la joubarbe dans le cancer du sein : après avoir constaté les effets de cette plante sur les verrues, il se proposa d'en étudier les éventuelles actions dans un cas de cancer du sein déclaré inopérable. Avec l'accord de sa malade, il débuta le traitement par des injections sous-cutanées à faible dose doublées d'une action externe par un onguent préparé lui aussi à partir de la plante. Il augmenta progressivement les doses d'injections et après une réaction inflammatoire locale bénigne, il constata une nette amélioration de sa malade :

- amélioration générale : plus de perte de poids, disparition de certaines sensations ;

- amélioration locale.

Après 12 mois de traitement, l'auteur fait part en 1913, de toute la satisfaction obtenue à partir de ce "traitement de la dernière chance".

Usage externe :

Les feuilles écrasées ou le suc frais constituent un remède vulgaire contre les brûlures, les piqûres d'abeilles, les inflammations superficielles, les verrues et oeil de perdrix, les cors, les plaies gangréneuses, les ulcères, les épithéliomas, les éphélides, les catarrhes des paupières, les maux de tête, les maux de dents et d'oreilles, la dureté d'oreilles, les amygdalites, les enflures, les ganglions.

Dans les ophtalmies débutantes, LECLERC (1696) appliquait sur les yeux des feuilles de joubarbe pilées avec le même poids de Fenouil.

Contre l'eczéma et les ulcérations serpigineuses avec exsudation séropurulente, P. de FOREST et CAZIN (1854) ont employé avec succès un mélange de suc de joubarbe et de

craie pulvérisée. Sur des dartres vives, rongeantes, sur des plaies profondes, les irritations vives de la peau, BOYER appliquait une pommage adoucissante ainsi préparée :

- Suc de joubarbe : 90 g
- Axonge : 90 g
- Huile d'amande douce : 120 g

On a aussi relevé une autre pommage employée avec succès contre les affections prurigineuses des parties génitales :

- Suc de joubarbe
- Huile de Millepertuis
- Eau de chaux
- Axonge.

} âà

Sur les brûlures, on appliquait le suc de joubarbe seul ou en émulsion dans l'huile pour calmer la douleur et prévenir les phlyctènes, mais l'application demande à être fréquemment renouvelée.

CAZIN a également constaté les bons effets sur les hémorroïdes douloureuses, les inflammations traumatiques.

En gargarisme, le suc étendu d'eau et mélé de miel lui a aussi réussi dans les amygdalites et les aphtes; dans le muguet, il faisait ajouter à 120 g de ce mélange, 120 g d'alun que l'on appliquait plusieurs fois par jour à l'aide d'un plumasseau.

Pour lutter contre la sécheresse de la langue dans les fièvres muqueuses, typhoïdes, bilieuses, etc..., les paysans tiennent du suc de joubarbe dans la bouche et en éprouvent un grand soulagement.

CAZIN a vu des hémorragies nasales cesser à l'instant par l'application à froid sur le nez de feuilles de joubarbe pilées avec du vinaigre.

Le nom populaire "d'herbe aux cors" faisait allusion à l'usage bien connu : les feuilles dépouillées de leur épiderme et appliquées sur les cors en calment les douleurs et les cautérisent peu à peu. On indique pour le même usage, un mélange à parties égales de suc de joubarbe et de suc de lierre dont on imbibe un peu de coton que l'on

maintient sur le cor ; deux ou trois applications suffisaient, disait-on à le faire disparaître.

Usage homéopathique :

Les homéopathes préparent avec la plange fraîche un extrait sans odeur ni saveur spéciales, qu'ils ordonnent contre les plaies, l'herpès, diverses éruptions, les douleurs du cancer, les hémorroïdes, les vers.

En plus de ce que nous venons de dire, le suc frais est aussi utilisé dans un peu d'eau sucrée ; une demi-cuillérée à café trois ou quatre fois par jour (contre les troubles nerveux de l'utérus).

Autres usages :

En diverses régions montagnardes on mangeait en salade les feuilles jeunes et les jeunes pousses. En Engadine, on plaçait des feuilles dans l'eau de boisson pour la rendre plus rafraîchissante.

"Le suc de joubarbe avec de la gomme, de l'arsenic rouge et de l'alun passait jadis pour un secret merveilleux grâce auquel, en s'en frottant les mains, on pouvait saisir le fer chauffé au rouge" (HEGI).

PREMIERE PARTIE

ETUDE BOTANIQUE

Notre étude est faite sur la joubarbe des toits : *Sempervivum tectorum* que nous vous proposons de découvrir à travers le plan suivant :

CHAPITRE I - Place dans la classification.

CHAPITRE II - Caractères généraux des Crassulacées.

A) Généralités.

B) Différents genres.

C) Principaux *Sempervivum*.

D) Dénominations communes du *S. tectorum*.

E) Répartition géographique.

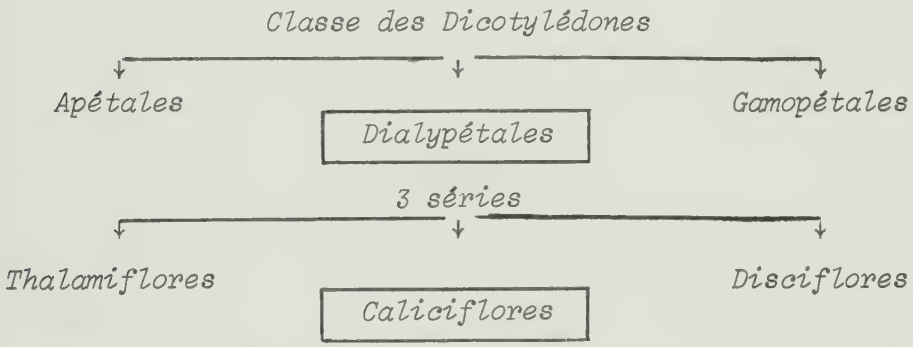
F) Description de la plante.

-:-

Chapitre I

PLACE DANS LA CLASSIFICATION

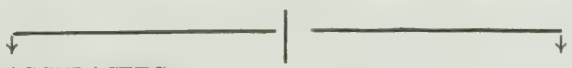
I - De l'ouvrage de DEYSSON (19) nous pouvons présenter le schéma récapitulatif suivant :



(*Réceptacle floral ordinairement concave, sépare pétales et étamines soudés à la base en formant une coupe (pétales et étamines semblent insérés sur le calice)*)

ROSALES

Carpelles souvent indépendants, fleur d'emblée verticillée.



Famille CRASSULACEES
genre Sempervivum,
espèce S. tectorum L.

II - Classification de EMBERGER (22) :

PHYLUM VII
=
ROSALES MYRTALES

ROSALES

(ROSALES Archaïques)

familles proches des Rosales

- *Hamamélidacés*
- *Platanacées*
- *Bruniacées*
- *Myrothamnacées*

ROSALES Typiques

- *CRASSULACEES*
- *SAXIFRAGACEES*
- *etc...*

Chapitre II

CARACTERES GENERAUX DES CRASSULACEES

A) *GENERALITES.*

C'est une famille de plantes à tiges et feuilles charnues (plantes grasses), plus abondantes dans la zone tropicale, mais représentées dans nos régions.

Elles sont vivaces, glabres, à feuilles toujours dépourvues de stipules et souvent très épaisses, aplaties, cylindriques ou ovoïdes.

La caractéristique la plus remarquable de la famille est l'isomérie constante de tous les verticilles, du calice au gynécée.

La formule florale est nS + nP + (n+n) E + nC ; n peut varier de 3 à 30, non seulement d'un genre à l'autre mais à l'intérieur d'un même genre ou d'une même espèce et presque sur le même individu.

Les inflorescences sont grandes, tantôt en cymes tantôt en corymbes ou ombelles ou en panicules, soit en inflorescences définies.

Les plantes de cette famille ont des fleurs régulières, blanches, jaunes ou rouges pourpre, roses, rarement bleues, violacées ou verdâtres. Le calice persistant après la floraison se compose de 3 à 20 sépales libres ou plus rarement soudés entre eux à la base.

La corolle est formée de 3 à 20 pétales libres entre eux ou plus rarement soudés ensemble sur une assez grande longueur. Il y a 3 à 40 étamines insérées sur la base du calice ou rarement sur la corolle. Le fruit (follicule) est constitué par 3 à 20 carpelles, libres entre eux et sans adhérence avec le calice, et présentant en dehors un nectaire en forme de lame ou de masse arrondie.

A maturité chaque carpelle du fruit s'ouvre par une fente située du côté intérieur pour mettre en liberté les graines qu'il contient.

Histologie :

On note des épidermes généralement glabres et très rarement des poils tecteurs et glanduleux. Dans le parenchyme, des idioblastes à tanin,de l'oxalate de calcium sous différentes formes, des cristaux isolés, sphérides et des cristaux pulvérulents.

Le cylindre central se compose de tissu de soutien avec des faisceaux libéro-ligneux réduits à quelques vaisseaux et tubes criblés.

Affinités des Crassulacées avec les autres familles :

Elles n'offrent de liaisons bien nettes avec aucune autre famille ; par l'intermédiaire de quelques groupes de plantes exotiques, elles se relient indirectement aux Saxifragacées.

Utilisation :

Beaucoup de plantes de cette famille sont cultivées pour l'ornementation ; quelques espèces sont utilisées en médecine. On a pu décrire 515 espèces répandues dans toutes les contrées du globe.

B) DIFFERENTS GENRES.

1) *Tillaea* = Tillée

- *Tillaea muscosa L.* Tillée mousse = mousse grasse.

2) *Bulliarda* = Bulliarde

- *Bulliarda vaillantii DC* (Bulliande de Vaillant).

3) *Sedum* =

- *S. rhodiola D.C.* (Sédum rhodiole)
- *S. telephium* (Sédum reprise)
- *S. anacampseros L.* (Sédum anacampseros)
- *S. cepraea L.* (Sédum pourpier)
- *S. stellatum* (Sédum étoilé)
- *S. hispanicum* (Sédum d'Espagne)
- *S. onnuum* (Sédum annuel)
- *S. villosum L.* (Sédum velu)
- *S. atratum L.* (Sédum noirâtre)
- *S. rubens L.* (Sédum rougeâtre)
- *S. alpestre vill.* (Sédum alpestre)
- *S. acre L.* (Sédum âcre)
- *S. amplexicaule D.C.* (Sédum à fleurs embrassantes)
- *S. altissimum Poix* (Sédum élevé)
- *S. anopetalum D.C.* (Sédum à pétales droits)
- *S. reflexum L.* (Sédum réfléchi)
- *S. alsinoefolium All.* (Sédum à feuilles alsinées)
- *S. cruciatum Desf.* (Sédum en croix)
- *S. dasyphyllum L.* (Sédum à feuilles épaisses)
- *S. album* (Sédum blanc)
- *S. hirsutum All.* (Sédum hérissé)
- *S. anglicum Huds* (Sédum d'Angleterre)

4) *Umbilicus* = ombilic.

5) *Sempervivum* =

Ce genre est caractérisé par des écailles nectarifères situées en dehors des carpelles, tout à fait à leur base, qui sont dentées ou découpées dans leur partie supérieure (très rarement entières) et par des pétales qui sont ordinairement cohérents entre eux par la base et soudés aux filets des étamines.

Le calice présente 6 à 20 sépales, la corolle 6 à 20 pétales, il y a 12 à 40 étamines, 8 à 20 carpelles. Les graines sont nombreuses et chaque carpelle du fruit s'ouvre par une fente du côté interne.

Ce sont des plantes vivaces, épaisses et charnues, à poils glanduleux au moins dans la partie supérieure de la plante, se multipliant par des rejets frêles et plus ou moins allongés qui se terminent par une rosette de feuilles en forme de petit artichaut.

Les feuilles sont alternes , aplaties, sans pétiole. Les fleurs sont roses, rosâtres, jaunes ou jaunâtres.

On a décrit environ 45 espèces appartenant à ce genre, habitant l'Europe, l'Asie et l'Afrique.

C) PRINCIPAUX *Sempervivum*.

1) *Sempervivum hirtum L.* Joubarbe hérissée.

- Feuilles aiguës au sommet.

- Fleurs groupées en inflorescences assez serrées, jaunâtres, elles ont un peu la forme de cloches.

Chaque fleur à 6 sépales ovales et obtus, 6 pétales ciliés sur les bords et sur la ligne médiane extérieure.

- Les pétales ont environ 2 fois la longueur du calice.

- 12 étamines, 6 carpelles dressés et velus.

C'est une plante vivace, toute couverte de petits poils glanduleux, 10 à 30 cm de large.

Fleurit en juillet et août.

2) *Sempervivum gaudini christ.* Joubarbe de Gaudin.

Fleurs d'un jaune vif.
20 à 30 cm.

Pétales aigus beaucoup plus longs que le calice.
Inflorescences souvent un peu lâches.
Fleurs portées par des pédoncules distincts.
Filets des étamines violets.

Le type principal est caractérisé par les rosettes non florifères qui sont odorantes, poilues, glanduleuses sur les deux faces et d'un rouge brun à leur sommet.Les fleurs deviennent souvent vertes en se desséchant.

On a décrit une sous-espèce de cette espèce :

- *S. wulfeni* Hoppe. S. de Wulfen dont les feuilles des rosettes sont sans poils sur les faces, ciliées,non odorantes, d'une teinte vert d'eau.

3) Sempervivum arachnoideum L.

Joubarbe à toiles d'araignée.

Espèce aux fleurs d'un rose vif. Longs poils noirs et blancs qui naissent sur le sommet des feuilles et aussi sur leurs bords, semblent réunir les feuilles les unes aux autres comme une toile d'araignée. 5 à 20 cm de haut.

Les fleurs ont des pédoncules très courts ; elles mesurent de 15 à 20 mm de longueur lorsqu'elles sont épanouies. Pétales sans poils. Les écailles nectarifères, placées en dehors des carpelles sont plus longues que larges et étalées. Plante entièrement couverte de poils glanduleux.

On a décrit une sous-espèce :

- *S. fauconneti* - Rent. J. de Fauconnet.

Rosettes non florifères de 3 à 4 cm de largeur. Feuilles des rosettes terminées par une sorte de panache de longs poils blancs.

4) Sempervivum tectorum L. Joubarbe des toits.

2 sous-espèces. 8 races et 37 variétés, les plus importantes étant :

- *S. montanom L.* Joubarbe des montagnes.

Fleurs d'un rose vif, 30 à 40 cm de large lorsqu'elles sont épanouies.

Rosettes de feuilles de 1 à 9 cm de large ; les feuilles de ces rosettes étant couvertes sur les deux faces et sur les bords de courts poils glanduleux.

S. minimum :
Plante de 2 à 10 cm.
Rosettes de feuilles de 1 à 3 cm de large.

- *S. arvernense.* Lec. et Lamotte. Joubarbe d'Auvergne.

Fleurs rose vif - 18 à 26 mm de large.
Rosettes de feuilles des rameaux non fleuris ayant environ 4 à 5 cm de large.

Les feuilles de ces rosettes sont ciliées et portent sur leurs faces des poils courts qui tombent pendant la seconde saison d'existence des rosettes.

S. alpinum (Joubarbe des Alpes).

S. calcareum (Joubarbe des terrains calcaires).

D) DENOMINATIONS COMMUNES DU *Sempervivum tectorum.*

- *Français* : Joubarbe, Grande Joubarbe, Artichaut de muraille, choux de chèvre, artichaut sauvage, herbe aux coupures, artichaut bâtard, herbe aux cors.
- *Allemand* : Hauswurz, Echte-Hauswurz, Dachlanch, Jupitersbart, Donnerbart, Gottesbart.
- *Flamand* : Huislook, Donder-Baart.
- *Italien* : Semprevivo, Soprovvivolo maggiore, Barba di giove, Erba-da calli, Carciofo grasso, Carciosi grassi, Semprevivo dei tetti.
- *Espagnol* : Siempreviva major, Hierba (Yerba) puntera.
- *Anglais* : House-Leek, Jupiter's beard, Sungreen,

Bullock's eye, Common houseleek , Thunder-plant, Poor-Jan's life, Home wort.

E) *REPARTITION GEOGRAPHIQUE - DISTRIBUTION.*

On trouve surtout les joubarbes sur les roches des contrées montagneuses.

La Joubarbe peut s'élever sur les montagnes jusqu'à de grandes altitudes : *Sempervivum montanum* se trouve facilement jusqu'à 2 800 m d'altitude et s'élève exceptionnellement jusqu'à 3 400 m.

En France : Pyrénées, Alpes, Massif Central.

La Joubarbe est aussi plantée sur les toits et les murs et parfois naturalisée, ça et là aux basses altitudes.

Suisse (Alpes) - Carpathes - Apennins - S/O de l'Asie - Belgique (naturalisée dans la vallée de la Meuse).

F) *DESCRIPTION DE LA PLANTE.*

1 - La Joubarbe est une plante vivace, herbacée, grasse, que l'on trouve dans nos contrées sur les vieux murs, les toits de chaume, les ruines, ses dimensions étant de 3 à 50 cm.

- Les feuilles sont épaisses, aplaties, simples, sans stipules, sans pétioles. Les feuilles des rameaux non fleuris sont en rosette serrée, en forme de petit artichaut de 4 à 8 cm de diamètre, glabres sur les faces, ciliées sur les bords, oblongues et pointues.

- Tige florifère simple et feuillée, à feuilles alternes portant sur le haut une inflorescence ramifiée.

- Fleurs régulières, roses ou rosâtres, étalées en étoiles, de 2 à 4 cm de diamètre, composées de :

. 8 à 20 pétales légèrement soudés entre eux à la base et aux filets des étamines, couverts de petits poils.

. 16 à 40 étamines (nombre double de celui des pétales).

. 8 à 20 carpelles fermés, libres, divergent au sommet.

En dehors des carpelles et à leur base, on trouve des écailles nectarifères dentées ou découpées dans leur partie supérieure.

- Follicule qui s'ouvre par une fente longitudinale du côté intérieur. Graines nombreuses, sur deux rangs, finement striées en long, albumen charnu et mince.

C'est une plante vivace qui se multiplie par des rejets frêles, allongés, se terminant par une rosette de feuilles en forme d'artichaut.

2 - *Partie utilisée :* feuille et suc.

Feuilles (Pharmacop. fr. 1866, Esp. 1905).

Les feuilles très succulentes donnent un suc que l'on obtient en pratique en écrasant les feuilles et en les réduisant en pulpe.

3 - *Floraison :* juin à août.

4 - *Culture :*

- Multiplication par la division des rosettes.

- Semer d'avril à juin, en pots ou terriers (ne pas recouvrir les traînes ou très peu).

- Repiquer en pots drainés dans une terre sablonneuse et mettre en place au printemps suivant.

La Joubarbe préfère une terre plutôt légère et sèche et le plein soleil. Le sol doit être bien drainé.

Notons qu'elle peut se contenter de peu de terre et se passer même d'arrosage.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE CHIMIQUE

DU SEMPERVIVUM TECTORUM

Chapitre I

RAPPEL DES CONNAISSANCES CHIMIQUES ET TRAVAUX ANTERIEURS

1°) On ne possède d'informations sur la joubarbe que par des analyses déjà anciennes. D'après celles-ci, cette plante comme la plupart des Crassulacées, contient une forte proportion d'acide malique et de malate de calcium (VAUQUELIN, 71), de l'acide formique (DOEBEREINER, 20), du tanin, une résine et un mucilage. KUHN et SCHAFFER (33) indiquent que la plante fraîche contient 14,3 mg d'acide ascorbique pour 100 g de substance fraîche et 64 mg pour 100 de la plante desséchée, et 77 p cent en eau.

2°) Au cours de notre travail bibliographique nous avons relevé la note de PARIS et FRIGOT (49) présentée par SONEGES, ayant pour titre : "Etude par chromatographie et par électrophorèse des alcaloïdes de diverses Crassulacées indigènes ; caractérisation de la nicotine chez le *Sempervivum arachnoideum L.*".

Divers espèces ont été examinées appartenant au genre *Sempervivum* : pour la première fois, des substances alcaloïdiques ont été mises en évidence dans les *"Sempervivum"*.

Chez le *Sempervivum arachnoideum*, la nicotine a pu être caractérisée par chromatographie et par électrophorèse sur papier.

Cette recherche a été faite par la méthode classique de STASS-OTTO que nous résumons ci-après : "100 g de plante fraîche (feuilles fraîches finement divisées), alcalinisés par NH_4OH, sont épuisés par un mélange éther-chloroforme (3-1 en volume). Le soluté obtenu est alors traité par H_2SO_4 dilué et la solution acide traitée par différents réactifs comme ceux de Mayer et de Bertrand.

Ces recherches faites surtout sur les différents *Sédum* ont permis de caractériser plusieurs bases de structure plus ou moins établies :

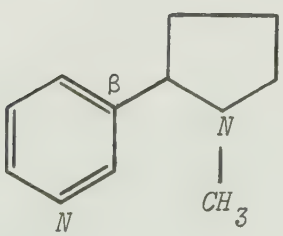
D'une part :

- nicotine,
- sédamine,
- sédridine,

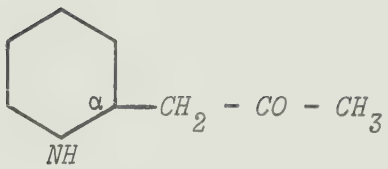
et d'autre part :

- isopelletiérine,
- sédinine,
- sédinone.

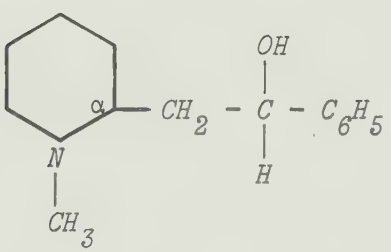
Nous rappelons ci-après les structures de ces substances :



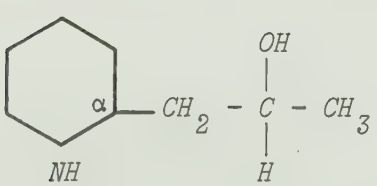
NICOTINE = 1- methyl 2- (3-pyridyl) pyrrolidine
(c'est une β pyrrolidine)



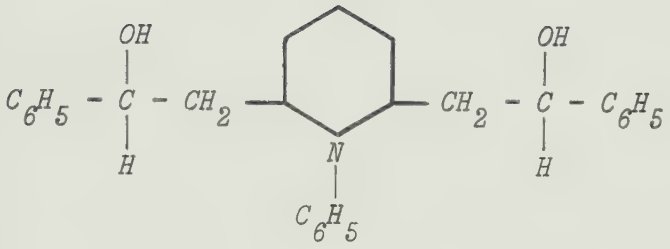
PELLERIERINE = 1-(2-piperidyl) propane 2-one



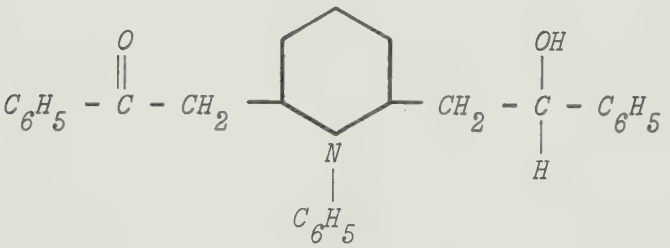
SEDAMINE = 1 phenyl 2 (N-methyl-piperidinyl) ethanol



SEDRIDINE = 1-2(piperidinyl) -2 propanol



SEDININE (α phenyllobelidine) 8 methyl-10-phenyl lobelidiol



SEDINONE

Leur recherche avait pour la première fois semble-t-il décelé la présence d'alcaloïdes dans deux espèces de *Sempervivum :*

S. arachnoideum L.

S. tectorum L.

Extraction des bases :

Celle-ci peut être réalisée par diverses méthodes:

1 - Macération dans l'éther-chloroforme ammoniacal ;

2 - Epuisement à l'appareil de Soxhlet ;

3 - Lixiviation par le mélange benzène-chloroforme alcalin ou par l'alcool acétique.

Les teneurs obtenues sont toujours faibles : 0,03 à 0,20 pour 100 des bases brutes rapportées à la drogue sèche. Les meilleurs résultats sont donnés par l'épuisement à froid au moyen d'éther-chloroforme (3-1 en volume) en milieu ammoniacal. Cette extraction est suivie d'une :

- distillation à sec des solvants organiques ;
- reprise immédiate du résidu par l'alcool acétique à 2 p 100 de CH_3COOH, d'une filtration et de l'évaporation d'une dilution du résidu acétique par environ 10 volumes d'eau. Suit une alcalinisation par NH_4OH et une extraction finale à l'aide d'éther qui est alors séché sur sulfate de sodium anhydre puis évaporé.

Les bases ainsi obtenues ont été étudiées en solution à 2 p 100 dans l'alcool acétique et 1 p 100 par électrophorèse et par chromatographie sur papier et comparaison avec la nicotine et d'autres bases témoins : sédamine et sédridine.

L'électrophorèse sur papier fut réalisée avec l'appareil de Machebœuf et Rebeyrotte, sur papier Arches 301 et une solution d'acide formique à 10 p 100 (de pH voisin de 1,5) durée 1 h., 10 volts/cm, 0,5 A/cm ou 50 mA, t° 20°C sur une prise d'essai de 20 µg.

Des essais ont également été faits avec des solutions d'acide formique à 1 p 100 (pH environ 3) et avec NH_4OH à 10 p 100 (pH voisin de 12) ; les autres conditions étant semblables.

En chromatographie ascendante de partage sur papier, c'est le butanol aqueux qui donne les meilleurs résultats, sur papier Arches 301 préalablement imprégné soit d'une solution de phosphate monopotassique M/15, soit d'une solution d'acide oxalique N/40 et séché.

La révélation des taches a été faite dans les deux cas soit par le réactif de Draggendorff dilué par trempage ou pulvérisations, soit par la réaction de König, selon la technique décrite par LEISERSON et WALKER (35) : pulvérisation sur la feuille d'une solution alcoolique à 1 p 100

d'acide para-amino-benzoïque puis après séchage à l'air, exposition aux vapeurs de bromure de cyanogène. Dans ces conditions la nicotine témoin donne une tache jaune apparaissant en 10 à 20 minutes, la sédamine et la sédridine ne donnant aucun résultat.

La mise en œuvre de ces méthodes sur les solutions d'alcaloïdes bruts d'une part, et sur les solutions de témoins d'autre part (solution à 0,2 p 100 dans l'alcool de nicotine, sédamine et sédridine base) permet une bonne identification des différents constituants.

Elle montre dans les deux extraits des deux *Sempervivum*, l'existence d'une tache principale non identifiée, de mobilité voisine de celle de la sédamine par électrophorèse en milieu formique, mais bien moindre en milieu ammoniacal ; accompagnée de taches beaucoup plus faibles, de faible migration dans tous les milieux.

D'autre part, les extraits de *Sempervivum arachnoideum* donnent une tache supplémentaire, assez faible mais constante, de mobilité analogue à celle de la nicotine par électrophorèse, tant en milieu formique qu'en milieu ammoniacal et donnant la réaction de König.

En chromatographie, cette base est retrouvée avec le même Rf que celui de la nicotine ajoutée comme témoin à l'extrait.

Ainsi, il existe une petite quantité de nicotine chez certaines espèces de *"Sempervivum"*. Cette base avait déjà été signalée par MARION et CHAPUT (38) avec un échantillon de *Sédum acre L.* ; mais n'a pas été retrouvée par d'autres auteurs : NORDAL (47).

On doit donc ajouter les Crassulacées à la liste des différentes familles (Equisétacées, Lycopodiacées, Linacées, Ascleropodiacées, Solanacées, et Composées) où la présence de nicotine a déjà été reconnue.

Chapitre II

TRAVAUX PERSONNELS

I - ETUDE DES CONSTITUANTS MINERAUX.

A) DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU LIBRE.

Notons tout d'abord l'extrême variabilité de la teneur en eau des plantes fraîches (5 à 95 p 100) selon les organes. Nous avons opéré sur les feuilles de la plante fraîche.

Méthode gravimétrique :

C'est la détermination de l'extrait sec obtenu par chauffage pendant un temps suffisant à 100-105°C des drogues divisées, la perte de poids correspond sensiblement à la totalité de l'eau libre qu'elles contiennent. Notons cependant que cette perte de poids peut être augmentée par l'évaporation d'autres principes volatils (plantes à huiles essentielles et à acides à bas poids moléculaire) ou au contraire diminuée par l'oxydation de certains constituants.

Nous avons opéré comme suit :

- Tarer une capsule préalablement séchée à l'étuve et refroidie dans un dessiccateur.

- Placer environ 4 g de drogue grossièrement pulvérisée et déterminer exactement le poids P de cette prise d'essai au mg près.

- Placer à l'étude 100-105° pendant au moins deux heures.

- Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser, en opérant plusieurs fois jusqu'à obtention d'un poids p à peu près constant.

On rapporte à 100 g $\frac{P - p}{p} \times 100$, ce qui donne :

dans nos déterminations $\frac{4,0287 - 0,2050}{4,0287} \times 100 = 94$ p 100 d'eau.

B) MINERALISATION - ETUDE DES MATIERES MINERALES.

Le dosage des cendres dans les drogues végétales reflète d'une manière assez précise leur teneur en éléments minéraux.

La proportion des cendres est en général de 3 à 6 p 100, mais elle peut être parfois inférieure comme ce sera le cas ici et peut s'élever dans certains cas jusqu'à 15 ou 20 p 100.

1) Cendres totales.

Elles résultent de la calcination complète : dans un creuset de forme basse en porcelaine, on place une prise d'essai p exactement pesée (p = 30 g). On incinère d'abord doucement puis jusqu'au rouge sans dépasser 800° au four à moufle pour ne pas volatiliser les chlorures. On laisse refroidir et on pèse les cendres résiduelles après avoir préalablement taré le creuset.

Dans notre plante, nous avons trouvé 1,5 p 100 de cendres.

2) *Etude des cendres.*

a) Dosage du Calcium et du Magnésium :

On opère sur p (cendres) = 0,10 g et on effectue ce dosage par complexométrie.

Dans un ballon jaugé de 100 ml on dissout ces 0,10 g de cendres dans HCl à 10 p 100.

Bien agiter et filtrer 10 ml dans un bêcher.

- Bêcher n°1 :

10 ml de filtrat, soit 0,01 g de cendres,
80 ml d'eau distillée,
1 grain de murexide,
12 ml de Na OH (N) → rose,
donnant un pH alcalin.

On titre par EDTA 0,1 M, pour passer du rose au violet on ajoute n = 0,8 ml,

$10 \times n \times 4 = Ca^{++}$, soit 32 p 100 dans la prise.

- Bêcher n°2 :

10 ml de même filtrat,
80 ml d'eau distillée,
5 ml de tampon NH_4Cl - NH_4OH de pH = 11,
1 grain de Noir ériochrome T.

La coloration passe du rose au bleu franc avec n' = 1,2 d'EDTA 0,1 M,

$10 \times (n' - n) \times 2,4 = Mg^{++}$, soit 9,6 p 100.

c) Dosage du Sodium et du Potassium :

On opère par Spectrophotométrie de flamme avec un appareil Jouan.

0,10 g de cendres dans 10 ml d'eau distillée (10 g/litre).

Tous calculs faits, nous avons trouvé :

Na = 16,5 p 100,
K = 1,2 p 100.

3) *Dosage de quelques anions (sur le jus frais).*

- Chlorures : 0,45 g/litre en NaCl,
- Sulfates : traces,
- Phosphates : 10 mg/litre en $P_2 O_5$.

II - ETUDE DE QUELQUES CONSTITUANTS ORGANIQUES.

A) ACIDITE.

1) Essais préliminaires :

Mise en évidence de quelques acides :

a) Acide formique et formiates :

- Chauffons un peu de jus de joubarbe avec un mélange à parties égales en volumes d'alcool et d'acide sulfurique : il se dégage une odeur caractéristique de rhum due à la formation de formiate d'éthyle.

- Le suc de joubarbe donne avec une solution concentrée et froide de sulfate acide de sodium une coloration jaune pâle devenant jaune orangée par une ébullition de quelques secondes et disparaîssant si l'on fait bouillir plus longtemps.

Cette coloration est due à la formation d'acide hydrosulfureux par réduction de $HNaSO_4$.

b) Etude de la réaction chromotropique :

Le formaldéhyde est séparé du milieu réactionnel par distillation et dosé colorimétriquement avec de l'acide chromotropique.

- *Réactifs :*

. solution tampon phosphate à pH = 5,5:ajouter 3,5 g de

phosphate tripotassique à 100 ml d'une solution monopotassique à 20 p 100 ;

. solution d'acide sulfurique concentré d^e = 1,84 ;

. solution d'acide chromotropique à 5 p 100 d'acide 1-8 dihydroxy-naphtalène 3-6 disulfonique (en flacon bouché émeri et à la glacière, cette solution se conserve deux semaines);

. solution étalon de formaldéhyde.

L'appareillage et la technique sont décrits dans le traité de LOISELEUR (36).

Après distillation, 5 ml de filtrat sont laissés à froidir. On agite, ajoute 4 ml H_2SO_4 et on abandonne à la température du laboratoire ; ajouter alors 0,1 ml (3 gouttes) de la solution d'acide chromotropique et l'on bouche après avoir mélangé.

On porte au bain-marie 30 minutes et on laisse refroidir.

On obtient une coloration violette que l'on peut comparer avec celle du tube témoin de solution de formaldéhyde.

- Remarque :

Cette réaction a pour but de mettre en évidence du formol dans cette plante mais il est possible que la coloration obtenue soit aussi due à la présence de méthanol qui peut lui aussi être dosé colorimétriquement par l'acide chromotropique, comme nous avons pu le vérifier à travers l'étude de cette réaction.

c) Mise en évidence d'acide malique et de malates :

En solution légèrement acidulée avec H_2SO_4, le jus de joubarbe additionné de bichromate de potassium dégage l'aldéhyde que l'on peut reconnaître à son odeur de pomme reinette cuite et à son action sur le réactif de Nessler et le $Ag\ NO_3$ ammoniacal sodique.

2) Acidité totale :

Elle est réalisée sur une solution correspondant à 1 ml de filtrat de jus de joubarbe fraîche.

. Neutralisation par NaOH N en présence de phénol phtaléine. Laisser agir un quart d'heure (1 ml NaOH N).

. Titrer l'excès de soude par HCl N correspondant (0,75 ml).

On obtient ainsi l'acidité ionique totale.

Résultats :

H^+ = 1 000 mEq

H^+ 0,1 N = 100 mEq

1 ml = 0,1 mEq

0,25 mEq = 250 mEq/litre.

3) Acidité organique :

On procède à la titration des acides organiques par la méthode de Van Slyke et Palmer (70).

a) Principe :

Dans une solution où le pH est aux environs de 8 (virage au rose de la phtaléine) les acides organiques (acides faibles) peuvent être totalement transformés en sels neutres.

Si à une telle solution on ajoute peu à peu HCl titré, l'acide chlorhydrique (acide fort) déplace les acides organiques tandis que le milieu devient de plus en plus acide (le pH s'abaisse et tend vers 1).

Or l'expérience prouve que lorsqu'on arrive ainsi à une acidité représentée par un pH voisin de 2,7, les acides organiques sont entièrement à l'état libre.

Le volume d'HCl titré utilisé à ce moment est évidemment proportionnel à la quantité d'acides organiques existant dans la solution et peut servir à la traduire.

Pour reconnaître le moment où la solution obtient

un pH de 2,7 on utilise un indicateur convenable, l'orangé IV (p. sulfo-benzène-azo-diphénylamine),

rouge en milieu acide, et
jaune en milieu alcalin,

dont la zone de virage s'étend de pH = 1,4 à pH = 2,6.

On peut aussi opérer au potentiomètre à électrodes verre-calomel.

b) Réactifs :

- Chaux éteinte,
- Phénolphtaléine,
- HCl 0,1 N
- Orangé IV en solution à 0,02 p 100,
- Fe Cl_3.

La solution alcoolique du colorant s'obtient facilement par le mode opératoire suivant : triturer longuement au mortier 0,02 g de colorant avec une petite quantité d'alcool de façon à obtenir une pâte homogène.

Faire passer le produit dans un flacon de 100 ml en s'aidant de 20 ml d'alcool à 95° et compléter ensuite à 100 ml avec de l'eau.

c) Technique :

50 ml de filtrat (de jus de plante fraîche),
2 g de chaux éteinte (chaux vive + eau),
quelques gouttes de Fe Cl_3.

On obtient une coloration bleue violette qui cache la coloration de la phtaléine. Agiter, filtrer et recueillir 25 ml de liquide jaune dans un petit becher (1).

On s'assure de la coloration rose de la phtaléine par la méthode de la touche externe.

25 ml de filtrat	25 ml d'eau distillée
5 ml de solution orangé IV	5 ml d'orangé IV
	1,2 ml HCl 0,1 N
1	*2 = témoin*

On verse alors dans (*1*) HCl 0,1 N jusqu'à coloration identique à celle du témoin (*2*) en ayant soin de ramener la solution (*2*) à volume égal à (*1*) pour la comparaison de la teinte finale.

HCl 0,1 N versé = 50 ml.

d) Résultats :

1 g =	Eq	= 1 000 mEq
0,1 g		= 100 mEq
1 litre HCl 0,1 N		= 100 mEq
	50 ml	= 5 mEq

Si on exprime les résultats en acide formique HCOOH de PM = 46, cela fait 4,6 g/litre en HCOOH (par litre de jus frais).

4) Dosage de la vitamine C :

Le dosage de la vitamine C s'effectue par réduction du réactif de Tillmans : dichloro -2-6 phénol-indophénol $HO\text{-}C_6H_4\text{-}N = C_6H_2Cl_2$, $0,2\ H_2O$.

Sachant que pour une solution de vitamine C à 1 g pour 1000, soit 1 mg par ml, on trouve que 0,2 ml de vitamine C font virer 7,5 ml de 2-6 ; on part de 1 ml de filtrat et on verse 2,8 ml de solution de 2-6 donc on avait :

$$\frac{0,2 \times 2,8}{7,5} = 0,0746 \text{ mg de vit.C dans 1 ml de filtrat.}$$

100 ml contiennent donc 7,46 mg de vitamine C.

Comme notre filtrat (F) de joubarbe était une solution au 1/2, la proportion de vitamine C était donc de 14,9 mg pour 100 grammes de jus de joubarbe.

B) CHROMATOGRAPHIE - ETUDE DES COMPOSES ORGANIQUES VOLATILS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.

1) Technique et appareillage :

a) On procède à un entraînement à la vapeur d'eau suivi d'une distillation avec rectification. Dans un mixer refroidi à 4°, on place le végétal récemment cueilli ; on procède à un broyage rapide et aussitôt on centrifuge. Immédiatement après, le liquide clair est entraîné à la vapeur d'eau. On recueille 25 à 50 ml de liquide suivant la quantité de départ et on distille dans un petit ballon émeri surmonté d'une colonne Vigreux de 25 cm environ suivie d'un réfrigérant descendant.

On recueille 0,2 ml et 0,5 ml de distillat.

Dans ces conditions on récupère plus de 95 p 100 des produits volatils qui se trouvent dans le liquide clair.

b) Chromatographie en phase gazeuse :

Nous avons utilisé l'appareil Carlo-Erba, modèle Fractovap.

Support Anachrom. Phase liquide PEG 400.
Température de vaporisation 150°C.
Température de l'enceinte thermostatée 80°C.
Colonne Acier Inox 3 mètres.
Atténuation. Imputation 32/1.
Pression Azote 0,85 - Oxygène 0,5 - Hydrogène 0,1 Atm.

c) Résultats et interprétation :

Divers essais ont été faits pour nous permettre l'identification de plusieurs pics.

On procède à une chromatographie de base avec le distillat de joubarbe seul.

Conditions et technique : voir ci-dessus et graphique. La mesure des Rf permet l'identification des différents pics :

- aldéhyde éthylique,
- acétone,
- acétate d'éthyle,
- éthanol,
- propanol,
- isobutanol,
- n butanol.

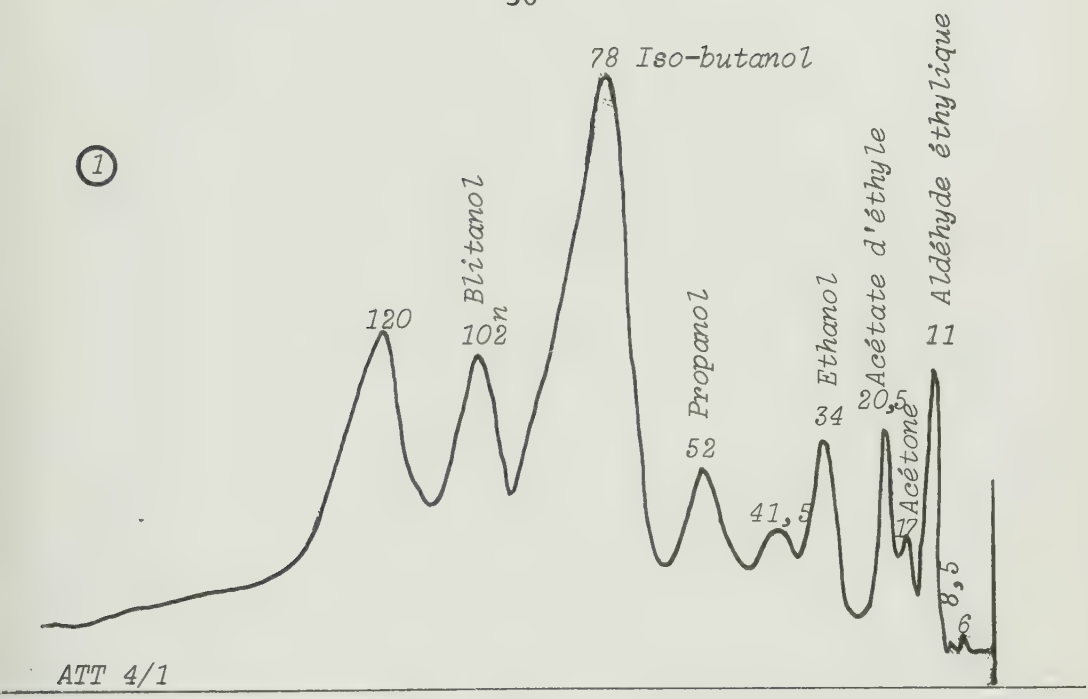
Une chromatographie témoin nous permet ensuite de contrôler certains pics :

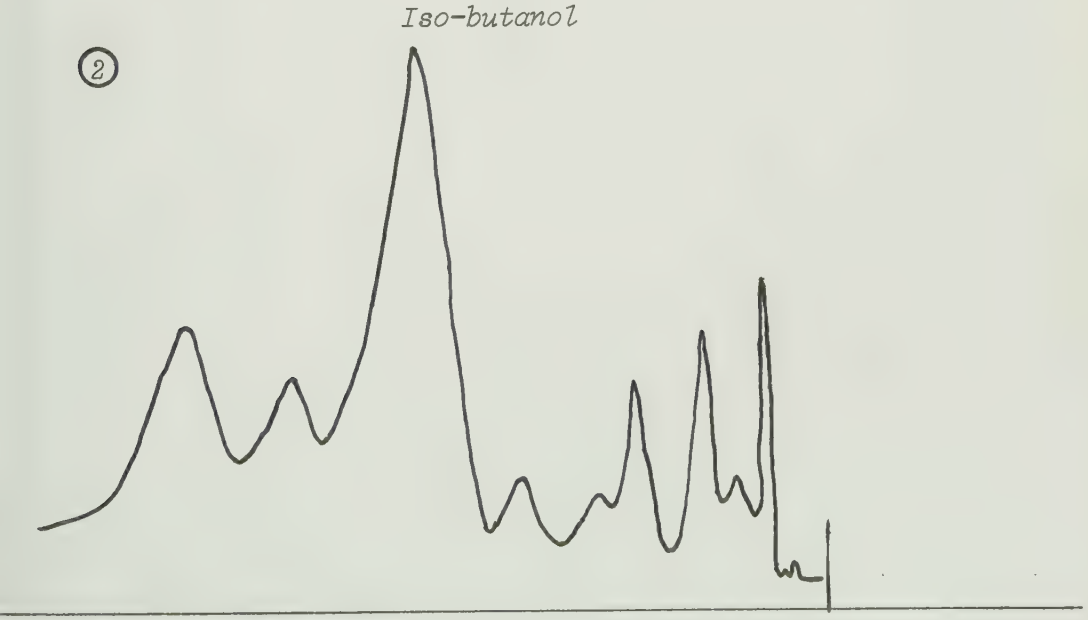
- chromatographie après addition de 3 gouttes d'iso-butanol 1/5000 ;

- chromatographie après addition de 2 gouttes de:

- propanol,)
- isobutanol,) au 1/5000
- n butanol)

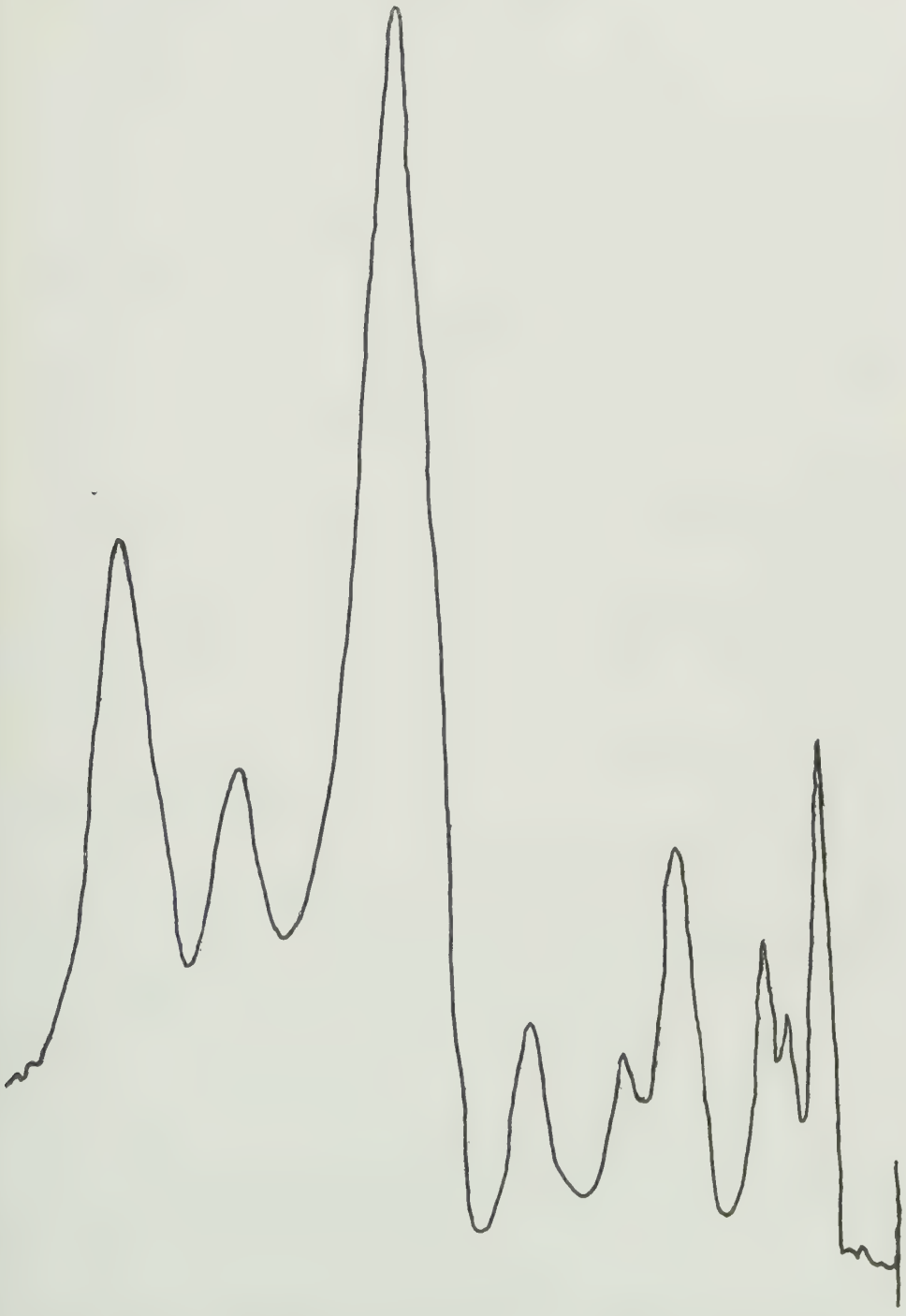
(Voir graphiques, pages suivantes).





IDEM + 3 Gttes supplt Isobutanol 1/5 000e

78 Iso-butanol



AO 550 0,5 ml + propanol Isobutanol - Butanol N 1/5 000 -
2 gttes de chaque.ATT 2/1 . Exp 6 80°.

C) ETUDE DES COMPOSES PHENOLIQUES.

1) Généralités sur les composés phénoliques :

Les composés phénoliques groupent un ensemble de substances possédant une ou plusieurs fonctions phénol, très répandues dans la nature.

L'étude de leur répartition dans les tissus végétaux n'a pu être efficacement résolue que par l'utilisation intensive de la chromatographie sur papier introduite dans ce domaine par BATE-SMITH (6) en 1948.

Parmi les composés phénoliques, ce sont les flavonoïdes, molécules à 15 atomes de carbone qui ont été les plus étudiés, leur structure dérive de la phényl-benzopyrone.

Les différents types de molécules de cette famille se rencontrent dans la nature à l'état d'hétérosides, sauf les flavanes 3-ols et les flavanes 3-4 diols qui interviennent dans la constitution des tanins sous forme polymérisée.

Le réactif général de ces composés phénoliques est le réactif de Folin et Ciocalteu (réactif chlorhydro-phospho-tungsto-molybdique).

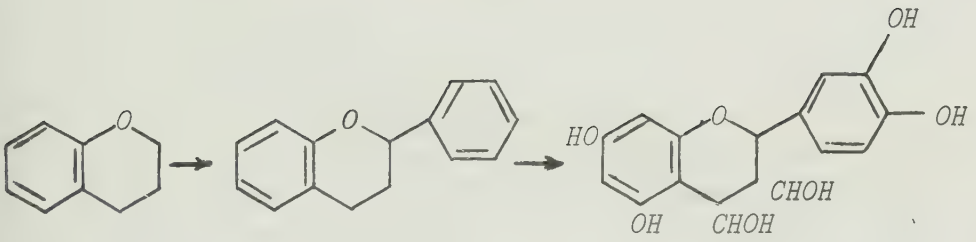
Expérience : dans un tube à essai placer un ml de filtrat aqueux de joubarbe. Additionner d'une à deux gouttes de réactif de Folin, on remarque aussitôt une coloration bleue qui s'intensifie par addition de quelques gouttes d'une solution de carbonate disodique.

2) Recherche et mise en évidence de leuco-anthocyannes :

a) Généralités et essai préliminaire :

Les leuco-anthocyannes, dérivent du noyau chromanne.

(voir structure page suivante).



chromanne *flavannes* *leuco-anthocyannes*

Ils se trouvent en abondance dans le monde végétal et ROBINSON (60) entreprit leur recherche systématique, aussi ses travaux ont été maintes fois consultés.

Nous nous sommes livré à un essai préliminaire avec quelques feuilles de joubarbe fraîche : par épuisement avec de l'acide chlorhydrique dilué au bain-marie, on obtient une coloration rouge qui passe dans l'alcool iso-amylique après agitation ; la phase résiduelle est alors incolore.

b) Mise en évidence :

- Extraction :

25 grammes de joubarbe fraîche finement découpée sont additionnés de 75 ml de HCl à 1 p 100.

On porte à l'ébullition une demi-heure puis on filtre ; le filtrat obtenu est coloré en rouge clair.

On additionne de 10 p 100 HCl pur et on place le tout dans un bécher puis on porte à ébullition 10 minutes. La coloration devient alors rouge très intense avec apparition d'un léger précipité rouge noirâtre.

On procède alors à l'extraction par agitation avec de l'alcool iso-amylique.

- Chromatographie :

Nous utilisons le solvant de Forestal ainsi préparé :

- acide acétique : 300 ml
- eau distillée : 100 ml
- acide chlorhydrique : 30 ml.

Procédons à deux chromatographies sur papier Whatman n°3 (chromatographie ascendante) :

- une chromatographie simple,
- une chromatographie bidimensionnelle.

La mesure des Rf permet alors l'identification du colorant sachant que les valeurs s'établissent ainsi dans les conditions présentes :

- cyanidol 0,5
- delphinidol 0,3
- pelargonidol 0,68.

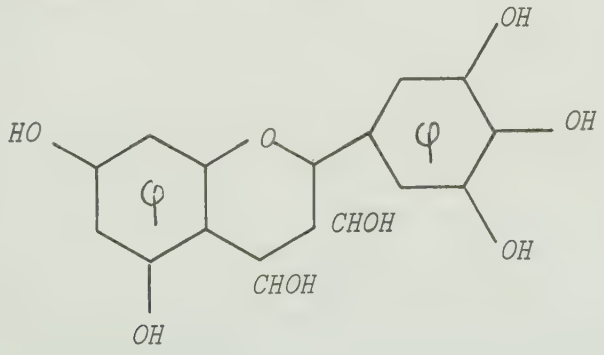
Nous enrichissons plusieurs gouttes de départ et l'on dépose le chromatogramme au fond de la cuve ; la migration s'effectuant pendant 3 heures. On sèche le chromatogramme sur papier filtre, puis à l'air libre.

- Identification :

- Mesure des Rf,
- Examen en UV.

Après migration, on obtient plusieurs spots et c'est le premier de couleur rouge violacée sui retient notre intérêt car il correspond au leuco-anthocyanne isolé dans notre plante, mise en évidence confirmée par l'examen en UV.

Le Rf retrouvé sur chaque chromatogramme (0,3) nous permet de conclure à la présence de leuco-delphinidol dont la formule est la suivante :



c) Rôle des leuco-anthocyannes :

Les propriétés des leuco-anthocyannes nous sont maintenant familières ; de nombreux travaux montrent leur activité vitaminique P.

L'Ecole Bordelaise a apporté une large contribution à l'étude de ces substances :

- TAYEAU et MASQUELIER (68) ont étudié le leuco-anthocyanne de la graine d'arachide.

- MASQUELIER et SANSOUS (43) le leuco-anthocyanne de l'écorce de pin qu'ils ont isolé.

- JENSEN (29) puis POINT (51) étudièrent les leuco-anthocyannes provenant des vins et de la vigne.

- ROUX (61) enfin étudia la stabilité des leuco-anthocyannes dans les médicaments galéniques. Grâce à leurs propriétés vitaminiques P, les leuco-anthocyannes agissent considérablement sur la perméabilité des capillaires sanguins et sur la résistance de leurs parois.

Les études faites utilisent soit le cobaye, soit le lapin. Dans les deux cas, on choisit des animaux blancs auxquels on tond la partie de l'abdomen.

- Sur le cobaye on utilise la méthode de HECHT (31) cherchant à obtenir l'apparition de pétéchies sous l'influence de dépressions de plus en plus grandes. Des mesures sont faites avant et après une injection intra-péritonéale de solutions de leuco-anthocyannes qui nous montrent l'augmentation de la résistance capillaire.

- Sur le lapin les auteurs utilisent la méthode de MENKIN (44). Ici c'est plutôt la perméabilité capillaire que l'on apprécie. On injecte dans la veine marginale de l'oreille une solution de bleu trypan et on irrite l'abdomen en y plaçant un petit tampon de feutre imbibé de chloroforme ; la zone ainsi irritée laisse diffuser le colorant: on voit donc apparaître une tache bleue. Il suffit de comparer les temps nécessaires à l'apparition de la tache avant et après l'injection de leuco-anthocyanne.

Ces méthodes donnent d'excellents résultats et prouvent l'activité vitaminique P des leuco-anthocyannes.

Il restait à étudier la toxicité du produit, MASQUELIER (39) a établi qu'à dose thérapeutique le leucoanthocyanne n'est pas toxique.

Il a obtenu des résultats avec des injections de 0,10 mg par animal mais cite un cobaye qui, ayant reçu une dose 200 fois plus forte ne présentait aucun trouble. Chez ce cobaye la résistance capillaire était devenue très élevée.

3) *Séparation et caractérisation des dérivés flavoniques de la Joubarbe :*

a) Séparation :

Pour ces travaux nous nous sommes inspirés des techniques publiées par PARIS et FOUGERAS (48).

Vers 1949, divers essais avaient été entrepris pour l'étude de la séparation des dérivés flavoniques par chromatographie de partage sur papier.

Plus récemment, il a été préconisé de remplacer la chromatographie par l'électrophorèse sur papier.

Les flavonoïdes, polyphénols à propriétés légèrement acides, migrent vers l'anode.

Les particules sont freinées dans leur déplacement par un courant liquide de sens inverse dû à l'évaporation de l'électrolyte par effet Joule. Dans la technique de Machebœuf on emploie ce contre-courant au lieu de chercher à le supprimer ; les avantages ainsi acquis sont particulièrement intéressants pour l'étude de molécules relativement petites comme celles des flavones. Un autre avantage de cette méthode est de rendre possible l'utilisation de solutions complexes et d'extraits non purifiés car ce même contre-courant "lessive" continuellement les substances au cours de la migration.

Notre expérience est réalisée avec l'appareil à électrophorèse Elphor et sur papier Schleicher Schüll 200 Streifen Filtrier papier Nr 2043 a Mgl.

La tension appliquée aux extrémités du papier est de 10 v/cm et l'intensité de 0,5 milliampère/cm.

L'électrolyte doit répondre à certaines exigences :

. il ne doit pas réagir avec les substances à étudier ;
. il ne doit pas gêner la révélation des spots ;
. il doit être stable.

De plus, l'on doit éviter la formation de substances venant altérer les principes à analyser en modifiant le pH du liquide.

- Préparation de l'extrait végétal :

Le végétal frais est mis à macérer 48 heures avec de l'eau à parties égales ; le macéré peut alors être utilisé tel quel ou concentré au bain-marie.

L'électrolyte utilisé est un tampon véronal-véronal sodique à pH = 8,6 de Durrum.

La durée de l'expérience est de deux heures.

Comme l'électrolyse se fait en milieu alcalin, les taches de flavones sont colorées en jaune et la révélation des spots se fait en UV.

b) Mise en évidence des dérivés flavoniques :

- Préparation d'un extrait de joubarbe stabilisé et purifié.

. Principe :

Les feuilles fraîches sont stabilisées par action du méthanol bouillant qui solubilise en même temps les hétérosides. L'extrait purifié est repris par l'eau. Cette manipulation permet d'éliminer en particulier la chlorophylle dont l'intense coloration masquerait certaines réactions de caractérisation.

. Mode opératoire :

Projeter 100 g de joubarbe fraîche dans 500 ml de méthanol bouillant, dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux.

. Maintenir l'ébullition pendant 2 heures.
. Filtrer après refroidissement : on obtient un filtrat jaune verdâtre.

. Concentrer par évaporation dans un évaporateur rotatif jusqu'à élimination de l'alcool par additions successives d'eau distillée. On concentre jusqu'à 40 ml et on filtre de nouveau sur filtre mouillé.

- *Réaction de coloration par la potasse.*

. *Principe :*

Les alcalis colorent en jaune vif la plupart des flavonoïdes.

. *Mode opératoire :*

Sur deux petits fragments de papier à chromatographie, déposer à la pipette Pasteur quelques gouttes de l'extrait préparé ci-dessus. Laisser sécher.

Plonger l'un des fragments dans une solution alcoolique de potasse : pastilles de KOH : 5 g,
alcool à 95° : 100 ml.

Observer la coloration jaune vif que l'on peut comparer à celle d'un témoin non traité.

- *Réaction de coloration par le chlorure ferrique.*

. *Principe :*

La nature polyphénolique des flavonoïdes entraîne la formation de colorations en présence de chlorure ferrique.

. *Mode opératoire :*

Sur deux fragments de papier à chromatographie déposer comme ci-dessus quelques gouttes de l'extrait. Plonger l'un d'entre eux dans le réactif au chlorure ferrique.

. Solution officinale de chlorure ferrique 2 ml
. Alcool à 90° q.s.p. 100 ml.

Observer la coloration vert olive assez foncée.

- *Réaction de fluorescence en présence de chlorure d'aluminium.*

. *Principe :*

En présence de chlorure d'aluminium les flavonols présentent sous la lumière de Wood une intense fluorescence jaune vert.

. *Mode opératoire :*

Même opération que pour les réactions précédentes.
Réactif au chlorure d'aluminium :
. trichlorure d'Al. 2 g,
. alcool à 95° 100 ml.

Porter les deux fragments de papier sous la lampe à rayonnements U.V. Observer la fluorescence jaune vert de la tache révélée s'opposant à la couleur brune du témoin non traité.

- *Réaction dite à la cyanidine :*

. *Principe :*

En présence d'hydrogène naissant produit par action de HCl sur du Mg, plusieurs groupes de flavonoïdes développent des colorations variées allant du rouge orangé au violet.

Dans le cas des flavonols la couleur obtenue est rouge cerise.

. *Mode opératoire :*

Dans un tube à essai placer 3 ml de l'extrait précédemment préparé.

Ajouter quelques ml d'alcool chlorhydrique.
HCl concentré 1 ml,
Alcool à 95° 100 ml,
et quelques rognures de Mg.

Noter le dégagement important de chaleur. Observer la coloration d'abord rose puis rouge orangée qui se développe lentement et passe en partie dans l'alcool isoamylique.

4) Recherche des tanins catéchiques :

Les tanins ou tanoïdes sont des substances de nature polyphénolique capables de se combiner aux protéines de la peau qui devient alors imputrescible.

Les tanins catéchiques ou phlobotanins, de nature non hétérosidique sont formés de polymères des catéchols. Leur condensation et leur oxydation conduit aux phlobaphènes ou "rouges" ; ils se colorent en brun vert par le chlorure ferrique.

Leur action propre est astringente et antidiarrhéique.

a) Précipitation par le réactif de Stiasny :

- Principe :

Seuls les tanins catéchiques sont précipités de leur solution par le formol en milieu chlorhydrique.

- Préparation d'un extrait aqueux :

Placer 100 ml d'eau dans un ballon. Ajouter 20 g de plante divisée. Porter à l'ébullition une demi-heure. Filtrer.

- Précipitation des tanins catéchiques :

Placer dans un erlenmeyer de 100 ml, 5 ml de décoction, et ajouter 15 ml de réactif de Stiasny ;

formol à 30 p 100 100 ml,
HCl concentré 50 ml.

Chauffer au bain-marie une demi-heure à température inférieure à l'ébullition en ayant soin de couvrir l'orifice de l'erlenmeyer par un verre de montre et d'opérer sous hotte (vapeurs agressives). Observer la précipitation des tanins catéchiques en gros flocons.

b) Oxydation :

- Principe :

Les tanins catéchiques s'oxydent en phlobaphènes rouges par chauffage en milieu chlorhydrique dilué.

Placer dans un grand tube à essai 3 ml de décocté de la plante. Ajouter 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et chauffer jusqu'à ébullition.

On observe le développement d'une coloration rouge.

D) RECHERCHE DE TRIMETHYL-AMINE. METHODE DE DENIGES.

Les corps azotés, à fonction amine ou à type alcaloïdique qui fournissent avec l'iode des combinaisons insolubles ou peu solubles, sont extrêmement nombreux, à tel point que l'iodure de potassium iodé (R. de Bouchardat) est un réactif général des alcaloïdes.

Mais il est exceptionnel que ces combinaisons soient cristallisables, plus exceptionnel encore qu'elles cristallisent presque immédiatement après leur formation sur une lame de verre porte objet, c'est-à-dire assez vite pour se prêter extemporanément à un examen microscopique.

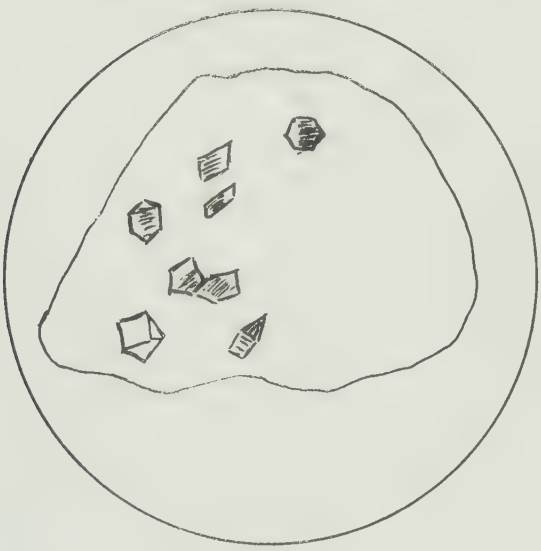
Quand la triméthylamine est en solution complexe, il faut la séparer par distillation après avoir rendu le milieu alcalin : pour cela 100 ml de liquide sont suralcalinisés avec de la lessive de soude (D^e = 1.33). On distille et on recueille 20 ml de distillat. Ces 20 ml sont fractionnés à leur tour et on retient le premier dixième passé à la distillation, soit 2 ml qu'on additionne goutte à goutte d'HCl jusqu'à réaction acide.

On essaie une goutte du mélange porté sur une lame avec l'extrémité arrondie d'un agitateur. Sur cette gouttelette, et avec l'extrémité d'une autre baguette de verre on porte une gouttelette à peu près équivalente par son volume de la solution suivante :

- iode 6 g
- KI 8 g
- eau distillée q.s.p. 150 ml.

On appuie alors la pointe d'un agitateur effilé dans l'intérieur de la goutte totale ainsi obtenue et on promène cette pointe de façon circulaire concentrique en ayant soin de ne pas étendre cette goutte.

On voit alors apparaître des petites lamelles microscopiques, d'aspect chatoyant et mordoré. On couvre à ce moment d'une lamelle et au bout de quelques instants on aperçoit des cristaux presque noirs certains isolés, d'autres en groupes d'iodure de triméthylammonium.



Examen microscopique de cristaux d'iodure de triméthylammonium

Remarque : cette réaction est facilitée si l'on prend soin de refroidir la solution acidifiée, la lame et le réactif.

On peut aussi opérer sur le résidu d'évaporation au bain-marie.

On reprend le résidu par une goutte d'eau que l'on évapore sur une lame et traite ensuite comme précédemment.

TABLEAU RECAPITULATIF

	Recherche	Dosage
CONSTITUANTS MINERAUX		
- Teneur en eau de la plante (feuilles)	.....	94 p 100
- Suc de la plante :		
. Chlorures	+	0,45 g/l en NaCl
. Sulfates	traces	
. Phosphates	+	10 mg/l en $P_2 O_5$
- Cendres totales	.....	1,5 p 100
. Calcium	.....	32 p 100
. Magnésium	.....	9,6 p 100
. Sodium	.....	16,5 p 100
. Potassium	.....	1,2 p 100
CONSTITUANTS ORGANIQUES		
- Acide formique et formiates	+	
- Acide malique et malates	+	
- Formaldéhyde	+	
- Acidité totale	.....	250 mEq/litre
- Acidité organique	.....	100 mEq/litre en HCOOH
- Vitamine C	.....	14,9 mg pour 100 g de jus
- Composés organiques volatils	+ (cf. chromatographies)	
- Leuco-delphinidol	+	
- Dérivés flavoniques	+	
- Tannins catéchiques	+	
- Triméthylamine	+	

III - ESSAI DE MISE EN EVIDENCE D'UN POUVOIR ENZYMATIQUE.

A) POUVOIR FIBRINOLYTIQUE.

Expérience réalisée sur la fibrine de porc étalon. Réaction à la ninhydrine.

(T)	(F)
1 g fibrine	1 g fibrine
55 ml H_2O	50 ml H_2O
	5 ml de filtrat (suc de joubarbe pur)

Nous plaçons les deux filtrats à l'étuve à 37° pendant 24 heures puis on filtre F et T.

La réaction à la ninhydrine doit se faire après avoir ramené les deux solutions à même pH par le bicarbonate de soude car F est trop acide.

1 ml (F)

1 ml (T)

On utilise pour cela le polyindicateur de Guillaumin qui prend une coloration bleu vert.

1 goutte de solution de ninhydrine. Ebullition 2 minutes ; on obtient une coloration bleue légèrement plus intense dans F que dans T.

Cette expérience renouvelée plusieurs fois nous a permis de constater chaque fois une coloration légèrement plus foncée à partir du jus de joubarbe ; ce qui nous a permis de conclure que cette réaction est faiblement positive.

Nous avons de nouveau vérifié par l'expérience suivante :

1 - fibrine de porc étalon	0,50 g	
eau distillée	5 ml	Bain-marie
2 - fibrine	0,50 g	thermostatisé
extrait aqueux ..... concentré	5 ml	à 37° pendant
3 - extrait aqueux concentré..	5,5 ml	4 heures.

On prend la précaution d'agiter régulièrement et de façon uniforme les 3 tubes toutes les demi-heures. Puis on centrifuge de façon à avoir un liquide clair et on prélève 1 ml de chaque échantillon.

On ajoute 4 ml du tampon H_2KPO_4 + HNa_2PO_4 M/15

pH = 5,55
+ 3 gouttes de ninhydrine.

On porte à l'ébullition au bain-marie bouillant 2 minutes.

1 - Reste incolore.
2 - Prend une coloration violette bleu clair.
3 - Devient bleu foncé.

On rajoute 5 gouttes de ninhydrine, ébullition 2 minutes. La coloration s'accentue encore et permet une différenciation entre 2 et 3.

Si l'on refait l'expérience à la ninhydrine après avoir laissé 24 heures au bain-marie à 37° on obtient toujours une coloration bleu intense dans 2 alors que 1 reste incolore.

B) POUVOIR PROTEOLYTIQUE ESTERASIQUE (TYPE PAPAINE).

- *Principe :*

La recherche de l'activité enzymatique de type papaïne est basée sur l'hydrolyse d'un substrat synthétique de nature peptidique : N-BAEE : le chlorhydrate de N-benzoyl-arginine-éthyl-ester chromatographiquement pur.

Cette réaction se traduit par la formule :

$$C_6H_5\text{-}CO\text{-}NH\text{-}R_1\text{-}COO\text{-}C_2H_5 + H_2O \rightarrow C_6H_5\text{-}CO\text{-}NH\text{-}R_1\text{-}COO\text{-}H^+ + C_2H_5OH$$

$$R_1 = \begin{matrix} C \\ \| \\ NH \end{matrix} - (CH_2)_3\text{-}NH_2$$

On opère en présence d'EDTA et de cystéine.

La combinaison d'EDTA avec les agents réducteurs augmente l'activation et à toutes les valeurs du pH, la combinaison de la cystéine et de l'EDTA donne le maximum d'activité spécifique ; l'activation et l'inhibition indiquant la nécessité d'un groupement thiol dans l'enzyme active.

La réaction enzymatique se ferait en deux temps :

. une réaction de transfert : l'ester thiol initial est déplacé avec la formation résultante d'un thiol ester avec la portion acyl du substrat ;

. une attaque par l'ion carboxylate de l'enzyme sur le thiol ester externe, avec libération de l'acyl-amino-acide et reformation du thiol-ester interne.

- Technique :

a) Précipitation de "l'enzyme" :

Nous avons essayé deux procédés :

. précipitation par la méthode de Delsal (methylal-méthanol)
methylal 4
methanol 1

. précipitation dans l'alcool à 95°.

Dans les deux cas on obtient un précipité blanc floconneux que l'on laisse reposer au réfrigérateur. Puis on centrifuge et évapore sous vide, on sèche ensuite dans un bêcher à douce température.

b) Etude du précipité :

Ce précipité séché est pesé (10 mg) puis on le dépose sur une lame de platine que l'on porte au rouge afin

d'obtenir les cendres. La poudre noircit puis devient bleu vert légèrement grisâtre.

On pèse ensuite les cendres obtenues : 8,2 p 100.

c) *Réaction n°1* :

Réactifs :

. solution A : 51,4 mg de N BAEE dans 2,5 ml d'eau distillée ;
. solution C : 5 mg "enzyme" dans 1 ml d'eau distillée ;
. soude ou potasse 0,02 N.

Méthode de la touche externe au polyindicateur de Guillaumin :

1 - Polyindicateur de Guillaumin avec BAEE : bleu clair.

2 - Polyindicateur de Guillaumin + enzyme : bleu.

Tube 1	Tube 2
1 ml BAEE	1 ml H_2O distillée
+	+
1 ml "enzyme" (5 mg de précipité dans 1 ml d'eau)	1 ml "enzyme"

On porte ces deux tubes au bain-marie à 37° une demi-heure.

3 - Polyindicateur de Guillaumin + (enzyme + eau) : bleu.

4 - Polyindicateur de Guillaumin + (enzyme + BAEE) : bleu vert.

On constate une activité protéolytique faible correspondant à un abaissement de pH de 0,3 à 0,4 unités de pH.

Cette même expérience renouvelée 24 heures après nous donne un résultat semblable sans augmentation notable de cette activité.

d) Réaction n°2 :

On opère sur deux prises de 0,10 g de précipité dilués dans 1 ml d'eau distillée.

1 - 0,10 g/1 ml.

2 - 51,4 mg N-BAEE/2,3 ml.

3 - 1 ml solution de BAEE + 1 ml "enzyme".

On porte au bain-marie thermostatisé à 37° pendant une demi-heure et on procède à la même étude sur plaque par la méthode de la touche externe au polyindicateur de Guillaumin. Après agitation et homogénéisation on observe les différents pH qui nous traduisent en 3 une légère diminution correspondant à une acidification.

24 heures après on constate une variation de pH de 0,4 unités de pH par rapport au substrat.

e) Etude de la réaction au pH mètre :

1 - BAEE : 103 mg dans 5 ml d'eau.

2 - Chlorhydrate de cystéine 157,5 mg
EDTA ..... 63,2 mg
NaCl 1,17mg
} 100 ml H_2O distillée

3 - "Enzyme" 33 mg dans 5 ml H_2O.

On tamponne 1, 2 et 3 à pH = 7 et on laisse au réfrigérateur 24 heures puis on revérifie les pH des 3 solutions.

Dans un bêcher on verse :
1 - 5 ml,
2 - 5 ml,
3 - 5 ml.

Le pH descend immédiatement de 7 à 6,5. On réajuste le pH à 7 avec de la soude 0,02 N. Au bout de deux minutes on constate une légère diminution correspondant à 0,2 pH.

Parallèlement nous suivons cette réaction en comparant avec une solution témoin de papaïne à 0,5 mg/ml :

1 ml de 1,
+ 1 ml de 2,
+ 0,1 ml de témoin.

Le pH descend à 6,5. On ajuste à 7 avec de la soude 0,02 N. On agite avec un agitateur magnétique, le pH diminue de nouveau et passe à 6,7 - 6,45 et 6,1.

β) Etude de la réaction au combititreur Metrohm:

Principe : l'activité enzymatique est recherchée à partir du N-BAEE dans les conditions suivantes : pH = 7,0 ; 25°C ; 0,1 M chlorure de sodium ; 0,005 M cystéine et 0,001 EDTA.

La base (soude 0,02 N) est versée durant la réaction correspondant à la diminution de pH en fonction du temps.

Solutions :

1 - 0,06 M N-Benzoyl-arginine-éthyl-ester (514 mg de N-BAEE chlorhydrate dissous dans 25 ml d'eau distillée).

2 - Cystéine - EDTA - NaCl

Cystéine	: 157,5 mg	dissous dans
EDTA	: 63,2 mg	100 ml d'eau
Na Cl	: 1,17 g	distillée.

3 - Solution d'"enzyme" dans l'eau bi-distillée.

Nous opérons à diverses concentrations et parallèlement avec un témoin de papaïne à 0,2 - 1 mg/ml d'eau bidistillée préparée récemment et conservée au réfrigérateur.

Ces solutions sont ajustées à pH = 7.

Technique : dans le bêcher contenant l'électrode au calomel introduire successivement 3 ml de solution 2, 0,1 ml de solution 3 et 5 ml de solution 1 en agitant et l'extrémité de la microburette contenant la soude 0,02 N.

On élimine CO_2 par un courant d'azote et on suit alors la réaction pendant 5 minutes à pH constant 7,00.

On note une légère diminution de pH lors du mélange des réactifs qui se traduit par la consommation de soude 0,02 N.

Mais le pH réajusté extemporanément ne subit pas d'autre modification.

Conclusion : on ne peut affirmer l'existence d'une activité amidasique ou estérasique dans notre extrait aqueux de joubarbe.

C) POUVOIR MURAMIDASIQUE.

Rappel : la muramidase ou lysozyme est la N-acétyl-muramide-glycanohydrolase. C'est à FLEMING que revient le mérite de la découverte du lysozyme : il s'agit d'une enzyme ayant pour propriété principale de lyser un certain nombre de bactéries dont Micrococcus lysodeikticus.

S'il a été découvert dans le mucus nasal le lysozyme est néanmoins extrêmement répandu dans la nature : chez l'Homme, les plantes, les bactéries.

Les applications du lysozyme dans le domaine de la microbiologie résultent de son pouvoir de lyser la paroi cellulaire des bactéries, principalement constituée par des mucopolysaccharides attaqués par action enzymatique.

Cela entraîne la libération par action sur leur substrat, de groupements dosables par les réactifs spécifiques des sucres aminés. Le substrat est constitué par un mucopeptide comprenant alternativement des résidus de N-β acétyl-glucosamine et d'acide N-acétyl-muramique reliés par des liaisons β (1-4), la partie peptidique étant reliée à l'acide muramique. Les lysozymes scindent cette liaison β (1-4) aussi sont-ils encore appelés β glucosaminidases ou N-acetylmuramide-glycano-hydrolases.

On détermine la quantité de lysozyme dans un extrait en suivant au spectrophotomètre les changements de densité optique obtenus par action de cet extrait sur une suspension de Micrococcus lysodeikticus.

Réactifs :

1 - Jus de joubarbe pur ou concentré.

2 - Tampon 960 mg bacto-Difco déshydraté/100 ml.

Prendre 75 à 100 mg de germes M. lysodeikticus Bacto-Difco ; dissoudre dans 100 ml d'eau distillée environ pour obtenir au spectrophotomètre UNICAM une D.O. de départ égale à 1,0.

Le zéro est étalonné sur le tampon ; tenir le pH ajusté à 6,2 ;

- phosphate dipotassique anhydre 2 g
- phosphate monopotassique 8 g
- eau distillée q.s.p. 1000 ml.

Substrat : tampon + q.s.de Micrococcus lysodeikticus.

Expérience : 4 tubes à essais.

B = blanc : 2 ml Joubarbe + 4 ml eau distillée
X = : 2 ml Joubarbe + 4 ml substrat
T = témoin : 2 ml eau distillée + 4 ml substrat
Y = : 2 ml Tampon + 4 ml substrat.

Au bout d'un quart d'heure on lit au spectrophotomètre UNICAM l'absorption de T et on compare avec les autres tubes.

On n'observe aucun éclaircissement dans X, ce qui traduit que le pouvoir muramidasique est nul.

Si l'on prend soin d'opérer parallèlement avec une solution de lysozyme à 30 µg/ml il nous est facile de constater un éclaircissement en X et la lecture au spectrophotomètre de 5 en 5 minutes nous traduit une diminution des absorptions.

IV - ESSAI DE MISE EN EVIDENCE D'UN POUVOIR ANTIBIOTIQUE.

Nos différents essais ont porté sur 3 cultures principales :

- Micrococcus flavus,
- Bacillus subtilis,
- Bacillus cereus.

- *PREPARATION DE L'EXTRAIT DE JOUBARBE.*

Le jus de Joubarbe est centrifugé puis filtré sur bougie de Chamberlan.

On ajuste alors le pH à 7 avec NaOH N et N/10.On concentre au bain-marie, le liquide est mis une nuit au réfrigérateur. On réajuste ensuite le pH à 7.

- *RECHERCHE DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE.*

METHODE DE HEATLEY (diffusion sur gélose).

1) *Essai sur Microcossus flavus :*

a) Culture :

Microcossus flavus ATCC 10240 entretenu par repiquages successifs sur milieu bacto- brain - heart infusion agar, ou coeur-cervelle de Mérieux.

b) Préparation de la gélose :

Bacto-Brain-heart infusion agar	52 g
Glucose	10 g
H_2O distillée q.s.p.	1 litre

Pour coeur-cervelle de Mérieux

Bacto-Brain-heart infusion	37 g
Agar	15 g
Glucose	10 g
Eau distillée q.s.p.	1 litre

On porte à l'autoclave à 1 kg de pression (121°C) pendant 15 minutes.

Remplir les tubes au 1/4 de gélose.

On porte à stériliser une deuxième fois à 121°C pendant 15 minutes.

Incliner les tubes après la deuxième stérilisation et laisser refroidir.

Les tubes ainsi préparés sont prêts à l'utilisation et servent aux repiquages successifs.

Ensemencer la gélose.

c) Préparation du substrat au Micrococcus flavus :

On récupère dans un tube à essai la culture de Micrococcus flavus que l'on mélange au contenu d'une ampoule de NaCl à 9 pour 1000.

Ensemencer ensuite la gélose à raison de 0,6 p 100. Verser la quantité de substrat nécessaire dans la gélose et agiter vivement puis couler la gélose dans les boîtes de Pétri.

d) Technique des cupules :

Verser 0,1 ml dans chaque trou et l'on opère avec un témoin de bacitracine. On porte à l'étude à 37°C pendant 18 heures.

N.B. Bacitracine étalon : 20 unités/ml, soit 2/0,1 ml.

Résultat : on observe un halo d'antibiose 5 fois moins grand que le témoin, ce qui correspond à 0,4 unités de bacitracine.

2) *Essai sur Bacillus cereus var. mycoïdes ATCC 9634 (spores) :*

Entretenu par repiquages successifs sur milieu gélose I.

Même technique, incubation à 30° pendant 20 à 24 heures.

Remarque : milieu gélose I :

- Bacto Nutrient Broth pH 6,8 — 8 g
- Agar Agar — 20 g
- Protéolysat de caséine en poudre — 2 g
- Protéolysat de levure de bière — 2 g
- Glucose pur — 1 g
- H_2O distillée q.s.p. — 1 litre

milieu gélose II : pH 6 :

- Bactro-Nutrient Broth pH 6,8 — 8 g
- Agar Agar — 13 g
- H_2O distillée — 1 litre

Ajuster le pH avant la stérilisation avec HCl.

Résultat : halo d'antibiose nul.

3) *Essai sur Bacillus subtilis :*

ATCC 6633 entretenu par repiquages successifs sur milieu gélose I (suspension de spores).

Incubation à 30°C pendant 16 à 18 heures.

Résultat : aucun effet antibiotique.

CONCLUSIONS :

Des expériences qui précèdent seul un léger pouvoir antibiotique sur M. flavus a pu être mis en évidence.

CONCLUSIONS GENERALES

Notre étude sur le *Sempervivum tectorum* nous a permis de faire un tour d'horizon sur cette plante grasse rencontrée assez fréquemment dans nos campagnes, mais qui jusqu'ici n'avait fait l'objet d'aucune étude approfondie; ainsi nous apportons dans ce travail, une mise au point concernant l'étude de cette plante indigène.

Après avoir rappelé l'historique d'usage (historique bien séduisant quant aux éventuelles possibilités d'utilisation de la Joubarbe en thérapeutique), nous apportons dans un premier chapitre les connaîssances botaniques actuelles, permettant ainsi de la classer parmi les espèces les mieux définies.

Le chapitre suivant développe nos recherches personnelles ; celles-ci nous ont amené à étudier les principaux constituants du suc de cette plante selon un plan qui pourrait être appliqué à toute étude systématique de plante.

La teneur en eau, en cendres, en sels minéraux, calcium, magnésium, sodium et potassium a été réalisée et nous soulignons sa richesse particulière en sels alcalino-terreux.

La partie organique nous a davantage retenu ; nous avons pu mettre en évidence la présence d'acide formique, de formiates et peut-être de méthanal par des réactions

chimiques dont la méthode chromotropique a été la plus convaincante. La recherche de l'acide malique et des malates nous a également conduit à des résultats positifs.

Notre plante comme bien d'autres, contient une quantité non négligeable d'acide ascorbique, ce qui n'est pas de règle dans les feuilles de plantes de nos régions.

L'analyse chromatographique en phase gazeuse nous a confirmé la présence de substances volatiles :

- aldéhyde éthylique,
- acétate d'éthyle,
- éthanol,
- propanol,
- isobutanol,
- n butanol.

Par contre, des essais de chromatographie sur papier et sur couche mince ne nous ont pas permis de vérifier la présence de bases à nature alcaloïdique signalée dans les travaux antérieurs.

La présence de phénols et polyphénols actifs sur le réactif classique de Folin et Ciocalteu nous a tout naturellement conduit à la recherche des dérivés de la phénylbenzopyrone.

Dans cette étude, nous avons pu affirmer par diverses chromatographies la présence de leucodelphinidol, ce qui accroît l'intérêt de cette plante.

Nous avons aussi caractérisé nettement la présence de dérivés flavoniques par électrophorèse et par les réactions classiques aux alcalis, aux sels ferriques ou d'aluminium, par la réaction de réduction de la cyanidine.

De plus, la recherche de la triméthylamine par la réaction microchimique de l'iodure de triméthylammonium a été positive.

Dans une partie spéciale, nous avons essayé de mettre en évidence une action enzymatique et une activité antibiotique.

- L'action enzymatique a été recherchée dans le sens d'une éventuelle protéolyse sur substrat de fibrine

naturelle et sur substrat synthétique de N benzoyl-arginine-éthyl-ester.

Sur le premier, par la réaction à la ninhydrine nous avons pu trouver une activité protéasique faible mais certaine.

Par contre, sur le substrat au BAEE nous avons dû conclure à une absence d'activité amidasique et estérasique.

- L'activité antibiotique n'a été recherchée que sur 3 souches :

. Micrococcus flavus,
. Bacillus cereus mycoïdes,
. Bacillus subtilis.

Seul le premier germe a montré par la technique de Heatley une certaine activité antibiotique que l'on a pu comparer à celle d'une dilution de bacitracine.

Ainsi en précisant l'existence dans le suc du *Sempervivum tectorum*, de constituants tels l'acide formique antiseptique, de dérivés flavoniques et de leucodelphinidol facteurs vitaminiques P, d'un tanin catéchique, d'un faible pouvoir protéolytique et peut-être d'un facteur antibiotique actif sur M. flavus, pensons-nous avoir apporté notre modeste contribution à l'étude de cette plante qui connut jadis un succès certain.

B I B L I O G R A P H I E

1. AXELROD (B), BANDURSKI (R.S.), GREINER (C.M.),JANG (R) -
The metabolism of hexose and pentose phosphates in higher plants.
J. Biol. Chem., 1953, 202, 619-634.

2. BABIN (P) -
Le lysozyme : Etudes concernant son usage thérapeutique.
Thèse doctorat Etat, Bordeaux, 1971, Ed.Bergeret.

3. BABIN (R) -
Titrage des flavonoïdes citriques.
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1957, 96, 61-4.

4. BABIN (R), COUSTOU (F) -
A propos des citro-flavonoïdes.
Bull. Soc. Pharm., Bordeaux, 1957, 96, 109-14.

5. BAILLON (H) -
Histoire des Plantes. 1 vol.
Hachette, Paris, 1872, III, 305-321.

6. BATE-SMITH (E.C.) -
Ferulic, sinapic and related acids in leaves.
Chem. and Ind., 1954 a, 1457-1458.

7. BONNIER (G) -
Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique, E. Orlhac, III, 199-200, PL 198.

8. BONNER (W), BONNER (J) -
The role of carbon dioxide in acid formation by succulent plants.
Am. J. Bot., 1948, 35, 113.

9. BORISOVA (A.G.) -
(Notes sur les Crassulacées).
In : "Novosti sistematiki vysshikh rastenij, Moskva, Leningrad, Izdat, Nanka, 1966, 140-3 (en russe).

10. BRADBEER (J.W.) -
Physiological studies on acid metabolism in green plants. IX. The distribution of 14C in malate in darkened Kalanchoe leaf fragments after infiltration with labelled pyruvate.
Proc. R. Soc. London, 1963, 157, 227-289.

11. BRADBEER (J.W.), RANSON (S.L.), STILLER (M.) -
Malate synthesis in Crassulacean leaves. The distribution of 14 C in malate of leaves exposed to 14 CO_2 in the dark.
Plant. Physiol., 1959, 33, 66-70.

12. BRADBEER (J.W.), RANSON (S.L.) -
Physiological studies on acid metabolism in green plants, VIII : the utilization of labelled pyruvate fumarate and glucose in kalanchoe leaves in the dark.
Proc. R. Soc. London, 1963, 157, 258-278.

13. BRANDON (P.C.) -
Enzymological studies on pathways of Grassulacean acid metabolism.
Kkl. Nederl. Akad. Van Vetensch. Amsterdam, Proc. Serv. C, 1963, 66 (5), 406-417.

14. BRYANT (F), OVERELL (B.T.) -
Displacement chromatography on ion exchange columns of the carboxylic acids in plant tissue extracts.
Nature, 1951, 167, 361-362.

15. BRYANT (F.), OVERELL (B.T.) -
Quantitative chromatographic analysis of organic acids in plant tissue extracts.
Biochim. Biophys. Acta 10, 1953, 471-476.

16. BULLEN (W.A.), VARNER (J.E.), BURREL (R.C.) -
Separation of organic acids from plant tissues.
Anal. Chem., 1952, 24, 187-190.

17. COSTE (A) -
Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes de la France.
1 vol. Librairie des Sciences et des Arts, Paris, 1937, II, 106-120.

18. DESCHATRES (R) -
La Phyllotaxie de la Joubarbe (*Sempervivum tectorum*).
C.R. 88ème Congrès National Sociétés Savantes, Clermont-Ferrand, 1963, Sec. Sci. II. Gauthier-Villars, Paris, 1964, 5, 545-551.

19. DEYSSON (G) -
Organisation et classification des plantes vasculaires. 1 vol.
S.E.D.E.S., Paris, 1964, II, 320.

20. DOEBEREINER (J.W.) -
J. Chemic und Phys., 1831, 33, 363-370.

21. DESVIGNES (A) -
Dosage biologique des Antibiotiques.
Labo. Pharma. Problèmes et Techniques. Oct.1971. 203, p.44-52.

22. EMBERGER (L), CHADEFAUD (M) -
Traité de botanique systématique.
Masson et Cie, 1960, vol. I et II.

23. FAIRBAIRN (J.W.) -
The pharmacology of plants phenolics.
Academic press. 1 vol., 1958, 81-121.

24. FETRE (J), LEBEGNE (A) -
Embryologie des Crassulacées. Développement de l'embryon chez le *Sedum spectabile Boreau*.
C.R. Acad. Sci. Fr., 1964, 258, n°20, 5035-8.

25. FOURNIER (P) -
Les plantes médicinales.
Ed. Lechevalier, Paris, 1948, II, 353-356.

26. FOURNIER (P) -
Les quatre flores de la France.
Ed. Lechevalier, Paris, 1946, 456-457.

27. GARNIER (J) -
Activité de la Glucose 6 P. déshydrogénase dans les feuilles de Crassulacées.
Bull. Soc. Fr. Physiol. Veg., 1964, paru en 1965, 10, n°3, 181-5.

28. GARNIER (G), BEZANGER-BEAUQUESNE (L), DEBRAUX (G) -
Ressources Médicinales de la flore française.
Vigot Frères, 1961, II, 700-701.

29. JENSEN (H) -
Recherche sur le pouvoir bactéricide des vins rouges.
Thèse Doctorat Université (Pharmacie), Bordeaux, 1954, Imp. Drouillard.

30. JORDANOV (I), PARTIR (B) -
En Bulgare : 1'absorption et 1'incorporation de glycine 14 C par les feuilles de quelques crassulacées en rapport avec le rythme d'activité des processus métaboliques.
Balg. Akad. Nank. Izvest. Inst. Fiziol. Rasten-Melodij. Popov., 1966, 15, 243-56.

31. HECHT (A.F.) -
Experimentelle-Klinische Untersuchungen über Hautblutungen in Kindesalter.
Jarbuch Kinderheilkr, 1907, 65, 113.

32. KACHARAVA (M.L.) -
Sur deux plantes succulentes répandues dans les plaines au pied des montagnes de la Georgie orientale.
Soobshech Akad-Nank-Gurz- S.S.R., 1964, 36, n°3, 647-53 (en georgien).

33. KUHN (A), SCHAFER (G) -
Zurkenntnis des vitamin C - gehaltes frisher Arzneipflanzen.
Madans Jahresber, 1939 (1940), 3, 52-58.

34. KULL (U) -
Der Einfluss der bodentrockenhert auf den kohlen hydratgehalt einiger crassulaceen.
Planta, Allem., 1967, 72, 344-47.

35. LEISERSON (L), WALKER (T.B.) -
Paper chromatography of nicotine and related compounds.
Analyt. Chem., 1955, 27, 1129-30.

36. LOISELEUR (J) -
Techniques de laboratoire. Masson et Cie. 2 vol.
Paris, I, 1954, 654.

37. MAC-DONALD (B.F.P.) -
A preliminary Note on the effect of *Sempervivum tectorum* in cancer.
The Lancet, 1913, 184, 128 d'après Year-Book Pharm, 1913, 255.

38. MARION (L), CHAPUT (M) -
A new occurence of dl-Methyl-isopelletiérine.
Can. J. Research., 1949, 27 B, 215.

39. MASQUELIER (J) -
Recherches sur les pigments de la graine d'arachide (Arachis hypogea L.).
Thèse Doct. Etat (Sciences), Bordeaux, 1948.

40. MASQUELIER (J) -
Action comparée des divers facteurs vitaminiques P sur l'oxydation de l'acide ascorbique par les ions cuivriques.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1951, 33, n°3-4, 304-5.

42. MASQUELIER (J), GRENIER (D) -
Effet du leucocyanidol sur le catabolisme auxinique.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1967,47,12,1807-12.

43. MASQUELIER (J), SANSOUS (G) -
Un nouveau facteur vitaminique P isolé du Pin des Landes.
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1953, 91, 16.

44. MENKIN (V) -
Activité anti-inflammatoire de certains bioflavonoïdes hydrosolubles.
Amer. J. Physiol. (1959), 196, n°6, 1205-10.

45. NETIEN (G) -
Action de la gibberelline sur la joubarbe des toits (*Sempervivum tectorum L.*).
Bull. Soc. Linn.,Lyon, 1964, 33, n°3, 96-8.

46. NISHIDA (K) -
Studies on stomatal movement of Crassulacean plants in relation to the acid metabolism.
Physiol. Plant. Danem., 1963, 16, n°2, 218-98.

47. NORDAL (A) -
Organic Crassulaceae acids I. Detection of isocitric in *Sedum acre L. and Echeveria secunda Booth, var glauca hort.*
Medd-Norsk. Farmac. Selsk S, 1942, 129-148 (Chem. Abstr. 40 : 6422, 1946.

48. PARIS (R), FOUGERAS (G) -
Séparation et caractérisation à l'aide de l'électrophorèse des alcaloïdes chez quelques Solanacées indigènes et exotiques.
Ann. Pharm. Fr., 1958, 16, 403.

49. PARIS (R.R.), FRIGOT (P) -
Etude par chromatographie et par électrophorèse des alcaloïdes de diverses Crassulacées indigènes ; caractérisation de la Nicotine chez le *Sempervivum arachnoideum L.*
C.R. Acad. Sc., 1959, 248, 1849-1852.

50. PERROT (E) -
Matières premières du règne végétal.
Masson et Cie, 1943, 1944, tome II, 1389.

51. POINT (G) -
Etude des substances vitaminiques P de la vigne et des vins blancs.
Thèse Doctorat Etat (Pharmacie), Bordeaux, Drouillard, 1957.

52. PUCHER (G.W.), LEAVENWORTH (C.S.), GINTER (W.D.), VICKERY (H.B.) -
Studies in the metabolism of Crassulacean plants; the diurnal variation in organic acid and starch content of *Bryophyllum calycinum*.
Plant.Physiol., 1947, 22, 360.

53. PUCHER (G.W.), LEAVENWORTH (C.S.), GINTER (W.D.), VICKERY (H.B.) -
Studies in the metabolism of Crassulacean plants. The behavior of excised leaves of *Bryophyllum calycinum* during culture in water.
Plant. Physiol., 1947, 22, 477.

54. PUCHER (G.W.), LEAVENWORTH (G.S.), GINTER (W.D.), VICKERY (H.E.) - Studies in the metabolism of Crassulacean plants. The effet of temperature upon the culture of excised leaves of *Bryophyllum calycinum*.
Plant. Physiol., 1948, 23, 123.

55. QUEIROZ (O) -
Sur le métabolisme acide des Crassulacées.Action à long terme de la température de nuit sur la synthèse d'acide malique par *Kalanchoe bloss-feldiana* "Tom Thumb" placée en jours courts.
Physiol. veg. Fra., 1965, 3, n°3, 203-13.

56. QUEIROZ (O) -
Sur le métabolisme acide des Crassulacées II. Action à long terme de la température du jour sur les variations de la teneur en acide malique en jours courts.
Physiol. veg. Fr., 1966, 4, n°4, 323-39.

57. RANSON (S.L.) -
Non volatile mono, di and tricarboxylic acids.

In Peach (K) and Tracey (MV) "Modern methods of plant analysis", 1965, II, 539-582, Springer-Verlag-Berlin.

58. RANSON (S.L.), THOMAS (M) -
Crassulacean acid metabolism.
Ann. Rev. Plant. Physiol., 1960, 11, 81-110.

59. RIBEREAU-GAYON (P) -
Les composés phénoliques du raisin et du vin.
Annales de Physiologie végétale. INRA, 1964.

60. ROBINSON (G.M.), ROBINSON (R) -
A survey of Anthocyanins II.
Biochem. J., 1932, 26, 1647-1664.

61. ROUX (J) -
Recherches sur la stabilité des leuco-anthocyannes dans les médicaments galéniques.
Thèse Doctorat Pharmacie, Bordeaux, 1959, Drouillard.

62. SALTMAN (P), KUNITAKE (G), SPOLTER (H), STITTS (C) -
The dark fixation of CO_2 by succulent leaves ; the first products.
Plant. Physiol., 1956, 31, 464-468.

63. SALTMAN (P), LYNCH (V.H.), KUNITAKE (G.M.), STITTS (C), SPOLTER (H) -
The dark fixation of CO_2 by succulent leaves : metabolic changes subsequent to initial fixation.
Plant. Physiol., 1957, 32, 197-200.

64. SMITH (I) -
Chromatographic and electrophoretic techniques.
William Heinemann Medical Books LTD London, 1960, I.

65. SODERSTROM (T.R.) -
The isocitric acid content of crassulacean plants and a few succulent species from other families.
Amer. J. Bot., 1962, 49, n°8, 850-5.

66. SONEGES (R) (voir PARIS, FRIGOT).

67. STUTZ (E), BURRIS (R.H.) -
Photosynthesis and metabolism of organic acids in higher plants.
Plant. Physiol., 1951, 26, 226-243.

68. TAYEAU (F), MASQUELIER (J) -
Localisation de l'arachidoside dans la graine d'arachide.
Bull. Soc. Pharm., Bordeaux, 1947, 85, 7-10.

69. THOMAS (M), RANSON (S.L.) -
Physiological studies on acid metabolism in green plants.
Further evidence of CO_2 fixation during dark acidification of plants showing crassulacean acid metabolism.
New Phytol., 1954, 53, 1-30.

70. VAN SLYKE (D.D.), PALMER (L.S.) -
Titration des acides organiques.
Technique de Goiffon (R) et Nepveu (F).
C.R. Soc. Biol., 1922, 86, 1132.

71. VAUQUELIN (C) -
Sur la présence du malate de chaux dans le suc de Joubarbe, *Sempervivum tectorum*.
Ann. Chem., 1800, 34, 127-129.

72. VIGNON-FETRE (J) -
Embryologie des Crassulacées. Formation et évolution de l'albumen chez le *Sedum spectabile Boreau*.
C.R. Acad. Sci. Fr., 1966, 262, 10-17, 1848-51.

73. VIGNON-FETRE (J) -
Embryologie des Crassulacées. Développement de l'embryon chez le *Sedum Sic boldi Sweet*.
C.R. Acad. Sci. Fr., 1966, 262, n°20, 2145-8.

74. VICKERY (H.B.), ABRAHAMS (M.D.), LEAVENWORTH (C.S.) -
Studies in the metabolism of Crassulacean plants: diurnal variation of organic acids and starch in

excised leaves of *Bryophyllium colycinum.*
Plant. Physiol., 1949, 24, 610.

75. WALKER (D) -
Malate synthesis in a cell free extract from a crassulacean plant.
Nature, 1956, 178, 593-594.

76. WALKER (D) -
Physiological studies on acid metabolism. IV. Phosphoenol pyruvic carboxylase activity in extracts of Crassulacean plants.
Biochem. J., 1957, 67, 73-79.

77. ZESIGER (F) -
Recherches cytotaxinomiques sur les joubarbes (genre *Sempervivum L.* et *Jovi barba Opiz*). Note préliminaire.
Ber - Schweiz - hot Gesellsch, 1961, 71, 113-7.

78. ZBINOVSKY (V), BURRIS (R.H.) -
New technique for adding organic acid to silicid acid columns.
Anal. Chem., 1954, 26, 208-210.

Editions BERGERET-2,rue Bergeret-Bordeaux-Tél.91.12.59 -

TABLE DES MATIERES

pages

INTRODUCTION 1

GENERALITES 2

HISTORIQUE 3

- PREMIERE PARTIE - ETUDE BOTANIQUE 8

CHAPITRE I - PLACE DANS LA CLASSIFICATION 9

CHAPITRE II - CARACTERES GENERAUX DES CRASSULACEES 11

A - Généralités 11
B - Différents genres 13
C - Principaux Sempervivum 14
D - Dénominations communes du *S. tectorum* 16
E - Répartition géographique..... 17
F - Description de la plante 17

- DEUXIEME PARTIE - ETUDE CHIMIQUE 19

CHAPITRE I - RAPPEL DES CONNAISSANCES CHIMIQUES ET TRAVAUX ANTERIEURS..... 20

CHAPITRE II - TRAVAUX PERSONNELS 25

I - Etude des constituants minéraux 25

A - Détermination de la teneur en eau 25
B - Minéralisation - Etude des matières minérales 26

II - Etude de quelques constituants organiques 28

A - Acidité 28
B - Chromatographie en phase gazeuse..... 33
C - Etude de composés phénoliques 37

1°/ - Généralités sur les composés phénoliques *37*
2°/ - Recherche et mise en évidence de leuco-anthocyannes *37*
3°/ - Séparation et caractérisation des dérivés flavoniques *42*
4°/ - Recherche de tanins catéchiques..... *46*

D - Recherche de triméthylamine 47

Pages

III - Essai de mise en évidence d'un pouvoir enzymatique 50

A - Pouvoir fibrinolytique 50
B - Pouvoir protéolytique estérasique 51
C - Pouvoir muramidasique 56

IV - Essai de mise en évidence d'un pouvoir antibiotique 57

CONCLUSIONS GENERALES 61

BIBLIOGRAPHIE 64

-:-

Editions BERGERET-2, rue Bergeret - Bordeaux.Tél.91.12.59